VERHALTEN VON STRUKTUR UND FUNKTION DER DICTYOSOMEN BEI ACETABULARIA UNTER VERSCHIEDENEN EXPERIMENTELLEN BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie (23)
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heide Zerban
aus Tolkemit

1974

VERHALTEN VON STRUKTUR UND FUNKTION DER DICTYOSOMEN BEI ACETABULARIA UNTER VERSCHIEDENEN EXPERIMENTELLEN BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie (23)
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heide Zerban
aus Tolkemit

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Referent: Prof. Dr. G. Werz

2. Referent: Prof. Dr. P. Giesbrecht

Tag der mündlichen Prüfung: 12.8.1974

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung 7

2. Material und Methoden 13

2.1. Pflanzenmaterial 13

2.1.1. Aufzucht und Kultur 13

2.1.2. Herstellung kernloser Zellen 14

2.1.3. Actinomycin-Behandlung 15

2.1.4. Puromycin-Behandlung 15

2.1.5. Dunkel-Versuche 16

2.2. Gefrierätzung 16

2.2.1. Vorbehandlung der Zellen 16

2.2.2. Herstellung der Replica 16

2.3. Präparation von Zellen für die ultrahistochemische Lokalisation von Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten 17

2.3.1. Fixierung 17

2.3.2. Inkubation 18

2.3.3. Nachfixierung 18

2.3.4. Entwässerung 19

2.3.5. Einbettung 19

2.3.6. Ultramikrotomie und Elektronenmikroskopie 20

2.4. Quantitative Bestimmung von Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten 20

2.4.1. Aufarbeitung der Zellen 20

2.4.2. Durchführung der Aktivitätsbestimmung 21

3. Ergebnisse 24

3.1. Struktur der Dictyosomen nach Gefrierätzung 24

3.1.1. Normalzellen 24

3.1.2. Kernlose Zellen 26

3.1.3. Puromycin behandelte Zellen 27

3.1.4. Verdunkelte Zellen 28

3.1.5. Cysten 29

3.1.6. Gameten 30

3.1.7. Zygoten 31

3.2. Lokalisation der Nukleosiddiphosphatasen und ihr Verhalten unter verschiedenen Versuchsbedingungen 32

3.2.1. Normalzellen 34

3.2.1.1. Adenosindiphosphatase 35

3.2.1.2. Cytidindiphosphatase 35

3.2.1.3. Guanosindiphosphatase 35

3.2.1.4. Inosindiphosphatase 36

3.2.1.5. Uridindiphosphatase 36

3.2.1.6. Thiaminpyrophosphatase 36

3.2.2. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen in kernlosen Zellen 38

3.2.3. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen nach Actinomycin-D-Behandlung 39

3.2.4. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen nach Puromycin-Behandlung 40

3.2.5. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen in verdunkelten Zellen 42

3.2.6. Lokalisation von Nukleosid-diphosphatasen in Gametenzellen 44

3.2.7. Lokalisation von Nukleosid-diphosphatasen in Zygoten 46

3.2.7.1. Gerade entstandene Zygoten 46

3.2.7.2. 6 Stunden alte Zygoten 46

3.2.7.3. 24 Stunden alte Zygoten 47

3.2.7.4. 3 Stunden alte Zygoten 47

3.3. Quantitative Bestimmung der Nukleosid-diphosphatase-Aktivitäten in vitro 48

3.3.1. Verteilung in Normalzellen 49

3.3.2. Verhalten in kernlosen Zellen 49

3.3.3. Verhalten in Puromycin behandelten Zellen 50

3.3.4. Verhalten in verdunkelten Zellen 51

4. Diskussion 56

4.1. Methodisch bedingte Schwierigkeiten 56

4.2. Wechselwirkung von Funktion und Struktur 58

4.3. Lokale Verteilung der Dictyosomen und Spezifität der Enzyme 63

4.4. Determination 66

4.5. Regulation 68

4.6. Offene Fragen 73

5. Zusammenfassung 75

6. Literatur 79

7. Verzeichnis der Abkürzungen 94

8. Anhang 95

8.1. Schema 95

8.2. Abbildungen 96

Danksagung

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Ende des 19. Jahrhunderts hatte der italienische Neurologe Camillo Golgi (1898) aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen erstmals eine netzwerkartige Struktur in den Nervenzellen von Wirbeltieren beschrieben, die später nach ihm als "Golgi-Apparat" bezeichnet wurde.

Diese zelluläre Struktur war lange Zeit Gegenstand heftiger Kontroversen im Hinblick auf ihr ubiquitäres Vorkommen, ihre Struktur und ihre Funktion. Während Golgi-Apparate inzwischen in fast allen eukaryotischen, tierischen Zellen nachgewiesen werden konnten (Afzelius, 1956; Hirsch, 1958; Schneider und Wohlfarth-Bottermann, 1959), blieb umstritten, ob pflanzliche Zellen analoge Strukturen besitzen. Erst nach Einführung der Elektronenmikroskopie konnte diese Frage definitiv geklärt werden. Nahezu bei allen eukaryotischen Pflanzenzellen treten Strukturanaloge auf: die Dictyosomen (z.B. Heitz, 1958; Perner, 1958). Selbst bei Pilzen, von denen man noch bis vor kurzer Zeit annahm, daß sie keine Golgi-Apparate besäßen, wurden inzwischen vereinzelt Golgi-ähnliche Strukturen nachgewiesen (Moor und Mühlethaler, 1963; Moore und McAlear, 1963).

In jedem Falle handelt es sich um Stapel flacher membranbegrenzter Zisternen. Die Anzahl und die Struktur von Dictyosomen, sowie ihre Lage in einer Zelle können je nach Zelltyp und Zellfunktion sehr variabel sein. Sie können

außerdem experimentell beeinflußt werden. Dementsprechend ist auch die Literatur zu diesem Thema sehr umfangreich (Übersichten z.B. Drawert und Mix, 1961/62; Sievers, 1965; Beams und Kessel, 1968; Schnepf, 1969; Favard, 1969; Morré et al., 1971). Interessant wurde in diesem Zusammenhang die Frage nach der Funktion von Dictyosomen. Bei tierischen Zellen einigte man sich, daß der Golgi-Apparat mit der Kondensation, der Exkretion bzw. Sekretion bestimmter Stoffwechselprodukte einer Zelle im Zusammenhang steht (z.B. Sievers, 1965; Neutra und Leblond, 1966a und b; Wetzel et al., 1966; Jamieson und Palade, 1967a und b; Berlin, 1967). Die Frage nach der Funktion von Dictyosomen in Pflanzenzellen war zunächst offengeblieben. Inzwischen liegen jedoch Befunde vor, daß auch in pflanzlichen Zellen eine wesentliche Funktion der Dictyosomen die Kondensation und die Sekretion bestimmter Stoffwechselprodukte ist (z.B. Schnepf, 1965; Sievers, 1965; Mollenhauer und Morré, 1966; Morré et al., 1967).

Die Bedeutung der Dictyosomen pflanzlicher Zellen liegt besonders darin, daß sie an der Zellwandbildung beteiligt sind (z.B. Whaley et al., 1964; Sievers, 1965; Northcote und Pickett-Heaps, 1966; Pickett-Heaps, 1967; Schnepf, 1969), wobei ihnen u.a. die Kondensation von Zuckerderivaten, die aus dem Photosyntheseprozeß in den Chloroplasten stammen, zu Polysacchariden obliegt. Diese Polysaccharide werden in Vesikeln durch das Cytoplasma zum Orte der Zell-

wandsynthese transportiert und dort durch die Plasmamembran hindurch in den extraplasmatischen Raum sezerniert (Schnepf, 1961, 1965; Sievers, 1965).

Nach den bisherigen Kenntnissen sind für die Bildung von Polysacchariden "aktivierte" monomere Bausteine notwendig, die Nukleosiddiphosphatzucker, die die Zelle aus Monosephosphaten und Nukleosidtriphosphaten unter der Wirkung spezieller Pyrophosphorylasen synthetisiert. Bei der Kondensation werden die Monosereste mit Hilfe spezieller Transferasen unter Abspaltung von Nukleosiddiphosphaten glykosidisch verknüpft (Caputto et al., 1950; Leloir, 1951; Su und Hassid, 1962; Ginsburg, 1964; Zetsche, 1965a; Tsai und Hassid, 1973). Das bedeutet, daß im Prozeß der Polysaccharidsynthese Nukleosiddiphosphate anfallen, die aus dem Reaktionsraum entfernt werden müssen, da sie sonst den Polymerisationsprozeß sistierten. Wahrscheinlich erfolgt eine Überführung in leichter translozierbare Nukleosidmonophosphate mit Hilfe spezifischer Hydrolasen, den Nukleosiddiphosphatasen.

Grundsätzlich läßt sich aus solchen Überlegungen ableiten, daß im Dictyosom eine Reihe von speziell wirkenden Enzymen enthalten sein muss, die auf seine Funktionalität abgestimmt sein müssen. Von den verschiedenen Enzymen, die bevorzugt mit den Dictyosomen assoziert sind, sind bisher saure Phosphatasen (Novikoff und Goldfischer, 1961; Poux,

1963; Sommer und Blum, 1965), Nukleosiddiphosphatasen (Dauwalder et al., 1966; Zaar und Schnepf, 1969; Goldfischer et al., 1971; Morré et al., 1971), Thiaminpyrophosphatase (Essner und Novikoff, 1962) und Peroxidase (Bainton und Farquhar, 1966) beschrieben worden.

Untersuchungen bei Acetabularia ergaben, daß nicht nur die Struktur sondern auch die chemische Zusammensetzung der Zellwand art- und organspezifisch ist (Werz, 1963, 1964a; Zetsche, 1967). Das heißt, die Anteile der verschiedenen monomeren Zucker in der Zellwand - es handelt sich vornehmlich um Mannose, Galaktose, Glucose und verschiedene Pentosen (Zetsche, 1965a, 1966c; Werz, 1970) - sind von Art zu Art in quantitativer wie auch in qualitativer Hinsicht verschieden. Daraus kann geschlossen werden, daß die Dictyosomen art- und organspezifisch reagieren können, da wahrscheinlich schon in den Dictyosomen bei den Kondensationsprozessen eine artspezifische Sequenz von Monomeren in den Polymeren festgelegt wird. Dementsprechend ist anzunehmen, daß zumindest einzelne Dictyosomenfunktionen vom Zellkern gesteuert werden. Untersuchungen an Amoeben über die Dictyosomenstruktur und verschiedene dictyosomenassozierte Enzyme stützen diese Annahme (Flickinger, 1968, 1973; Wise und Flickinger, 1971).

In diesem Zusammenhange stellt sich die Frage, ob alle Dictyosomen homologe Funktionen aufweisen, oder ob onto-

genetisch oder räumlich bedingt verschieden funktionierende Dictyosomen in einer Zelle enthalten sind, worauf die Untersuchungen von Werz (1964b) hinweisen.

Weiter ist zu fragen, ob die Struktur Hinweise auf die Funktionalität der Dictyosomen geben kann, d.h. ob Struktur und Funktion in unmittelbarer Beziehung zueinander stehen. Dies ist anzunehmen, da einerseits zumindest ein Teil der Enzyme integraler Bestandteil der Membranen der Dictyosomen sein dürfte und andererseits die Vesikelbildung z.B. vom Aktivitätszustand der Zelle abhängt (Schnepf, 1961; Sievers, 1963).

In der vorliegenden Arbeit wurde unter den angeführten Gesichtspunkten bei der einkernigen und einzelligen Grünalge Acetabularia die Struktur der Dictyosomen verschiedener Zellregionen und Entwicklungsstadien und ihr Verhalten unter verschiedenen experimentellen Bedingungen untersucht. Da Artefaktbildung, die bei den chemisch fixierten und eingebetteten Objekten nicht zu umgehen ist, nach Möglichkeit ausgeschlossen werden sollte, wurden für die strukturellen Untersuchungen die Zellen mit Hilfe der Gefrierätzmethode präpariert. Um außerdem eine mögliche Korrelation zwischen Struktur und Funktion unter den gegebenen Bedingungen erkennen zu können, wurden darüber hinaus Untersuchungen über die Lokalisation, die Verteilung und das Verhalten substratspezifischer, dictyosomen-assoziierter,

hydrolytischer Enzyme durchgeführt. Dabei besaßen Nukleosiddiphosphatasen (E.C. 3.6.1.6.) besonderes Interesse, da ihre Aktivität eine Relation zwischen Golgi-Funktion und Zellwandsynthese erkennen läßt; denn bei der Synthese von Polysacchariden fallen um so mehr Nukleosiddiphosphaten an, je mehr Zellwand gebildet wird.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Pflanzenmaterial

2.1.1. Aufzucht und Kultur

Für die Untersuchungen wurden die Dasycladaceen-Arten Acetabularia mediterranea (A. med.) und Polyphysa (Acetabularia) cliftonii (P. clift.) verwendet (Abb. 1 und 2). Die Zellen waren unter den üblichen Kulturbedingungen (21°C, 2400 Lux, 10/14 Stunden Licht-Dunkel) in Erd-Schreiber-Lösung herangezogen worden (s. Hämmerling, 1944). Bei Versuchsbeginn hatten sie eine Länge von 3-4 cm. Es wurden ausschließlich noch hutlose Zellen verwendet.

Für die Versuche mit Gameten und Zygoten wurden Gametangien ("Cysten") der entsprechenden Arten (Abb. 3 L) in Schreiber-Lösung mit einer 75 W-Glühlampe bestrahlt, um die Gametenbildung auszulösen. In der Regel ist dies nach wenigen Tagen der Fall. Die zweigeißeligen Gameten sammeln sich aufgrund ihrer positiv-phototaktischen Reaktion an der dem Licht zugewandten Seite der Kulturschale, wo sie mit einer Pasteurpipette leicht abgenommen werden können. Nach der Kopulation der (+)- und (-)-Gameten wandern die noch beweglichen diploiden Zygoten aufgrund ihrer negativ-phototaktischen Reaktion zum "Dunkelrand". Dort setzen sie sich fest und können nach verschiedenen Zeiten für die Untersuchung abgenommen werden. Für die Versuche wurden gerade durch Gameten-Kopulation entstandene (0), sowie 3,

6 und 24 Stunden alte Zygoten verwendet.

2.1.2. Herstellung kernloser Zellen

Um Aufschlüsse über die Kernabhängigkeit zellulärer Prozesse oder Strukturen erhalten zu können, ist die Möglichkeit der Untersuchung kernloser Zellen von besonderer Wichtigkeit. Seit den grundlegenden Untersuchungen an Acetabularia von Hämmerling (1931, 1934) ist es bei diesem Objekt besonders leicht, kernlose Zellen herzustellen.

Die Entfernung des Kernes erfolgt durch einfache Amputation des kerntragenden Rhizoids. Auf diese Weise erhaltene kernlose Zellen wurden zwei Tage unter Schwachlichtbedingungen in Petrischalen belassen, um einen guten Verschluß der durch die Amputation entstandenen Wunde zu gewährleisten. Daran anschließend wurden die Zellen 14 bzw. 28 Tage unter normalen Kulturbedingungen weiterkultiviert.

In den Versuchen, in denen eine Behandlung mit Actinomycin oder Puromycin erfolgte, um bestimmte Stoffwechselaktivitäten der Zellen zu beeinflussen, wurden die kernhaltigen Zellen in kernlose Vorderstücke von etwa 2 cm und kernhaltige Hinterstücke von etwa 1 cm Länge zerschnitten, die anschließend eine Woche lang normal kultiviert und danach mit dem entsprechenden Antibiotikum behandelt (s.u.) wurden.

2.1.3. Actinomycin-Behandlung

Die Zellteile (s.o.) wurden in Schreiber-Lösung übertragen, die den Transkriptionshemmer Actinomycin-D (SERVA) in einer Konzentration von 30 µg/ml (Werz, 1964b; Zetsche, 1964a und b) enthielt. Als Kontrollen dienten Zellteile, die weiter in Schreiber-Lösung ohne Actinomycin-D kultiviert wurden. Die Behandlung erstreckte sich über 10 Tage. Nach 5 Tagen wurden die Lösungen erneuert. Dies erschien erforderlich, weil das Chromopeptid Actinomycin lichtempfindlich ist. Zur Zeit muß allerdings noch dahingestellt bleiben, ob Actinomycin ausschließlich Transkriptionen an der Kern-DNS oder auch an der DNS von Plastiden und Mitochondrien beeinflußt. Darüber hinaus ist noch nicht bekannt, in welcher Menge das Antibiotikum durch die Zellwand in das Zellinnere überhaupt aufgenommen wird (s. de Vitry, 1964).

2.1.4. Puromycin-Behandlung

Bei diesen Versuchen wurden die kernlosen Vorderstücke und die kernhaltigen Hinterstücke in Schreiber-Lösung, in der der Translationshemmer Puromycin (SERVA) in einer Konzentration von 30 µg/ml gelöst worden war (Werz, 1964b; Zetsche, 1965b), übertragen; die Kontrollzellen blieben in Schreiber-Lösung. Die Behandlung dauerte 10 Tage, die Lösungen wurden nach 5 Tagen erneuert.

Nach den Untersuchungen von Kowalski (unveröff.) an dem imperfekten Pilz Botrytis cinerea wird dieses Antibiotikum

in das Zytoplasma aufgenommen.

2.1.5. Dunkel-Versuche

Die Pflanzen für diese Versuche wurden 14 und 28 Tage im Dunkeln gehalten. Dabei ist ihr Wachstum sistiert (Stich, 1951). Kontrollpflanzen wuchsen im Licht weiter.

2.2. Gefrierätzung

2.2.1. Vorbehandlung der Zellen

Aufgrund ihres hohen Wassergehaltes wurden die Zellen zuerst in 3%igem Glutardialdehyd in Seewasser (pH 7.0) 1 1/2-2 Stunden bei +4°C fixiert. Nach mehrmaligem Waschen mit Seewasser wurden die Zellen mit Glycerin in steigender Konzentration bei +4°C imbibiert (5%, 10% und 20% Glycerin in Seewasser je eine Stunde; danach 30% Glycerin in Seewasser über Nacht).

2.2.2. Herstellung der Replica

Gameten, Zygoten, die Spitzenregion (V) oder die Rhizoide (Rh) der Zellen oder Cysten wurden in dichter Packung auf Goldpräparatträgerplättchen übertragen, in verflüssigtem Freon-12 eingefroren und in flüssigen Stickstoff übertragen.

Gefrierschneiden, Gefrierätzen und Bedampfen mit Pt-C und C erfolgten in der üblichen Weise in der BALZERS-Anlage BA 360 M (z.B. Moor und Mühlethaler, 1963). Nach dem

"Feinschneiden" erfolgte die "Ätzung" 3 min bei -100°C und 10^{-6} Torr.

Die erhaltenen Replica wurden in +4°C kaltem Wasser abgelöst. Anschließend wurden sie durch Waschen mit Eau de Javelle (3 h), destilliertem Wasser, 40%iger Chromsäure (ca. 15 h) und wieder destilliertem Wasser von anhaftenden Zellresten befreit und auf unbefilmte Kupfernetze übertragen.

2.3. Präparation von Zellen für die ultrahistochemische Lokalisation von Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten

Für den Nachweis von Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten in situ wurde die Ausfällung von enzymatisch freigesetztem o-Phosphat durch Pb^{++}-Ionen in der Modifikation von Zaar und Schnepf (1969) angewendet.

2.3.1. Fixierung

Um die Zellstrukturen bei möglichst geringer Inaktivierung der zu untersuchenden Enzyme optimal zu erhalten, wurden die Zellen in 4%igem, frischem Glutardialdehyd in 0.1 m Cacodylatpuffer (pH 7.0) zwei Stunden bei +4°C vorfixiert, Gameten und Zygoten 30-60 min. Anschließend wurde mit 0.1 M Tris-Maleat-Puffer (pH 7.2) mit 0.2 M Saccharose 2 1/2 Stunden (5 x je 30 min, Gameten und Zygoten 3 x 30 min) bei +4°C der überschüssige Glutardialdehyd ausgewaschen.

2.3.2. Inkubation

Die Inkubation mit den verschiedenen Substraten erfolgte bei +21°C über vier Stunden (Gameten und Zygoten 90 min) im Dunkeln.

Folgende Nukleosiddiphosphate (SERVA) wurden als Substrate getestet: Adenosindiphosphat (ADP), Cytidindiphosphat (CDP), Guanosindiphosphat (GDP), Inosindiphosphat (IDP), Uridindiphosphat (UDP), sowie Thiaminpyrophosphat (TPP).

Das Inkubationsmedium enthielt folgende Komponenten (nach Wachstein und Meisel, 1957, modifiziert von Zaar und Schnepf, 1969): 4 mM $Pb(NO_3)_2$; 5 mM Substrat, 2 mM $MgCl_2$, 2 mM $MnCl_2$, 2 mM $CaCl_2$ in 0.15 M Tris-Maleat-Puffer (pH 7.2). Im Anschluß an die Inkubation wurde zunächst mit 0.1 M Tris-Maleat-Puffer (pH 7.0) mit 0.2 M Saccharose 2 Stunden (4 x 30 min) bei +4°C gewaschen.

Die Kontrollzellen wurden in gleicher Weise behandelt, nur mit dem Unterschied, daß im Inkubationsmedium kein Nukleosiddiphosphat enthalten war. Dadurch konnten eventuell auftretende, unspezifische Bleiausfällungen erkannt werden.

2.3.3. Nachfixierung

Eine zur weiteren Struktur-Stabilisierung notwendige Nachfixierung erfolgte mit 1%igem OsO_4 in 0.35 M Veronal-Acetat-Puffer (pH 7.2) nach Palade (1952) bei +4°C über

14 Stunden (Gameten und Zygoten 1 h). Überschüssiges OsO_4 wurde durch mehrmaliges Waschen der Zellen (4 x 30 min) in Veronal-Acetat-Puffer bei +4°C entfernt (s. Palade, 1952).

2.3.4. Entwässerung

Die fixierten Zellen wurden mit Aceton steigender Konzentration entwässert und zwar mit 30%, 50%, 70%igem Aceton jeweils 30 min bei +4°C, anschließend mit 90%igem und zweimal mit absolutem Aceton bei Zimmertemperatur, jeweils eine Stunde.

2.3.5. Einbettung

Nach der Dehydratation wurden die Zellen mit 3:1-, 1:1- und 1:3-Mischungen von Aceton und Araldit je 1 Stunde imbibiert und schließlich in reinem Araldit eingebettet (Glauert und Glauert, 1958).

Für die Einbettung der Rhizoide wurden Gelatinekapseln verwendet. Die Spitzen der Zellen (V) wurden dagegen flach eingebettet, um ein horizontal zur Längsachse orientiertes Schneiden zu ermöglichen.

Die Präparation von Gameten und Zygoten wurde in allen Schritten in BEEM-Kapseln (SERVA, 8 mm) durchgeführt, wobei die Zellen zwischen den einzelnen Schritten jeweils 5 Minuten bei 5000 U/min in der ECCO-Tischzentrifuge

abzentrifugiert wurden. Die Einbettung erfolgte schließlich ebenfalls in BEEM-Kapseln. Um ein mögliches Eindringen von Weichmachern aus dem Polyäthylen der Kapseln in das Araldit zu verhindern, waren sie zuvor mit Gelatine ausgegossen worden.

2.3.6. Ultramikrotomie und Elektronenmikroskopie

Ultradünnschnitte (Interferenzfarben "silber" bis "gold") wurden auf dem Ultramikrotom OmU_3 von REICHERT mit Glasmessern hergestellt und auf Formvar befilmte Kupfernetze übertragen.

Die Nachkontrastierung der Schnitte erfolgte mit 2% Uranylnitrat (MERCK) oder mit gesättigtem Uranylacetat (RIEDEL DE HAEN) in Wasser (20 min bzw. 1 h). Daran schloß sich eine zusätzliche Behandlung mit Bleicitrat nach Reynolds (1963) an (20 min). Die Schnitte wurden bei 80 kV im SIEMENS Elmiskop 101 untersucht. Für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden AGFA-GEVAERT Scientia Platten 23D50 verwendet.

2.4. Quantitative Bestimmung von Nukleosid-diphosphatase-Aktivitäten

2.4.1. Aufarbeitung der Zellen

Für die in vitro-Versuche wurden Pflanzen verwendet, die durch sorgfältiges Pinseln weitgehend von anhaftenden

Bakterien befreit worden waren. Jeweils 50 zwei cm lange Vorderstücke bzw. Hinterstücke wurden abgeschnitten und in 1 ml Triäthanolamin-Puffer (TRA-Puffer), pH 7.6, im Potter-Elvehjem-Homogenisator homogenisiert. Da sich die Enzyme als stark membranassoziert erwiesen, erfolgte Zugabe von 1% Triton X-100. Das Homogenat wurde 5 min bei 20 000 g zentrifugiert, der klare Überstand vom Sediment dekantiert und als "Enzymlösung" weiter verwendet. Sämtliche Manipulationen fanden bei +4°C im Kühlraum statt.

2.4.2. Durchführung der Aktivitätsbestimmung

Die quantitative Bestimmung der Nukleosiddiphosphatasen erfolgte photometrisch in Anlehnung an die Methode von Graßl (1970). Das Prinzip dieser Methode ist die enzymatische Bestimmung der Nukleosiddiphosphate nach der Gleichung:

$$XDP + PEP \xrightleftharpoons[\text{Kinase}]{\text{Pyruvat-}} XTP + Pyruvat$$

$$Pyruvat + NADH + H^+ \xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Lactat-}} L\text{-Lactat} + NAD$$

Die NADH-Abnahme, gemessen an der Extinktionsänderung bei 340 nm, ist der Menge an Nukleosiddiphosphat direkt proportional.

Für die Versuche wurde jeweils eine bestimmte Menge Nukleosiddiphosphat als Substrat vorgegeben und in einem aliquoten Teil die zur Zeit t_0 vorhandene Menge Nukleosiddiphosphat bestimmt (E_0).

Um Aussagen über die relativen Aktivitäten der Nukleosiddiphosphatasen machen zu können, wurde die Abnahme der Menge an Nukleosiddiphosphat in einem weiteren aliquoten Teil, der 90 Minuten bei 25°C inkubiert worden war, in gleicher Weise bestimmt (E_{90}). Die Differenz $\triangle E$ zwischen E_0 und E_{90} wurde als Maß für die Enzymaktivität genommen. Der Kontrollansatz enthielt kein Substrat. $\triangle E$ gibt also die Menge XDP an, die in 90 min zu XMP mit Hilfe der Nukleosiddiphosphatasen abgebaut worden ist. Berechnet wurde die Menge nach der Formel:

$$C = \frac{\triangle E \cdot V}{\epsilon \cdot d \cdot v} \quad \mu \text{ Mol/ml}$$

$\triangle E$ = Extinktionsänderung

V = Testvolumen

ϵ = Extinktionskoeffizient (6.22 für NADH bei 340 nm)

d = Schichtdicke

v = Probenvolumen

In die Küvette (1 cm Schichtdicke) wurden folgenden Mengen an Testlösungen pipettiert:

2.50 ml 0.1 M Triäthanolamin-Puffer

0.05 ml 12 mM red. Nicotinamid-adenin-dinukleotid (NADH)

0.15 ml 32 mM Phosphorenolpyruvat (PEP) in 83 mM $MgSO_4$ und 0.135 M KCl

0.02 ml Lactat-Dehydrogenase (LDH) (5 mg Protein/ml)

0.10 ml "Enzymlösung"

0.10 ml 5 mM XDP-Lösung (ADP, CDP, GDP, IDP, TPP, UDP). Die Kontrollen enthielten TRA-Puffer

0.02 ml Pyruvat-Kinase (10 ml Protein/ml) (PK) (alle Testsubstanzen von BOEHRINGER, Mannheim).

Die Extinktionsänderungen wurden im BECKMANN Spektralphotometer DB-GT bei 340 nm bei Raumtemperatur (25°C) gegen Luft oder, soweit genügend Pflanzen zur Verfügung standen, gegen Kontrollen ohne XDP-Lösung gemessen.

3. ERGEBNISSE

3.1. Struktur der Dictyosomen nach Gefrierätzung

3.1.1. Normalzellen

Innerhalb einer erwachsenen Acetabularia-Zelle sind die Dictyosomen polar verteilt. Ihre Anzahl orientiert sich offensichtlich an dem jeweiligen Aktivitätszustand einer bestimmten Zellregion. Demzufolge sind in der Spitzenregion der Zelle, in der hauptsächlich die Wachstumsprozesse ablaufen, mehr Dictyosomen enthalten als in der basalen Region, in der normalerweise kein Längenwachstum mehr stattfindet (z.B. Crawley, 1964). Das perinukleäre Plasma ist frei von Dictyosomen. Lediglich die sogenannten "perinukleären Körper", die als Vorstufen von Dictyosomen oder E.R. angesehen werden, konnten nachgewiesen werden (Abb. 5 e) (Werz, 1964b; Zerban et al., 1973).

Die Dictyosomen selbst sind vorwiegend im zellwandständigen Zytoplasma lokalisiert. Meist sind sie regelmäßig darin verteilt. Sie können einzeln oder zu mehreren auftreten (Abb. 4-6), und sind dann nicht selten von einem partiell membranbegrenzten Zytoplasmabereich umgeben, sodaß eine Art "Golgi-Feld" entsteht (Abb. 5 d). Diese Abgrenzung von Golgi-Feldern läßt sich auch im Schnittpräparat zeigen (Abb. 5 f).

Generell entspricht der Aufbau und die Form der Dictyosomen von Acetabularia-Zellen weitgehend den Dictyosomen anderer Zellen. Das Dictyosom besteht in der Regel aus einem Stapel von 5-8 flachen Zisternen, die randständig mehr oder weniger stark aufgebläht sind. Diese "Blasen" werden, nach allgemeiner Ansicht, später abgeschnürt und als Golgi-Vesikel, in denen "Golgi-Produkte" enthalten sind, zur Zellwand transportiert (Mollenhauer et al., 1961). Bei Acetabularia-Zellen sind in den Vorderstücken, d.h. in der Wuchsregion, Golgi-Vesikel in großer Zahl vorhanden (Abb. 4 e). Im Rhizoid dagegen sind Golgi-Vesikel weniger zahlreich. Sie erreichen im Rhizoid zudem in der Regel auch nicht die Größe von Golgi-Vesikeln aus der Spitzenregion (Abb. 5, 6). Dieser Befund weist erneut darauf hin, daß Größe und Zahl der Golgi-Vesikel mit der Aktivität der Dictyosomen einerseits, und andererseits mit der Aktivität der jeweiligen Zellregion korreliert sind. Auch der Durchmesser der Zisternen der Dictyosomen im Rhizoid ist gegenüber dem der Zisternen im Vorderstück reduziert. Die Zahl der Zisternen der Dictyosomen jedoch erscheint im Vorderstück und Rhizoid etwa gleich, soweit man aus den angebrochenen Organellen darauf Rückschlüsse ziehen kann.

Auffällig erscheint bei den Acetabularia-Dictyosomen der unterschiedliche Partikelbesatz, den die Zisternenmembranen auf ihrer Außen- und Innenseite aufweisen. Auf die Frage der verschiedenen Partikel hat auch schon Werz und

Kellner (1970) bei Dunaliella-Zellen hingewiesen. Wo das Gefrierätzbild den Blick ins Innere einer Zisterne freigibt, fällt auf, daß die Innenseite der Zisternenmembran von einer Vielzahl verschieden strukturierter Partikel unregelmäßig besetzt ist, während die Außenseite bei nur geringem Partikelbesatz relativ glatt erscheint (Abb. 4 →). Dies gilt sowohl für die Zisternen der Dictyosomen aus Vorderstücken wie für die aus dem Rhizoid. Auch die Dichte des jeweiligen Partikelbesatzes erscheint annähernd gleich zu sein (Abb. 4, 5, 6).

Nach Werz und Kellner (1970) handelt es sich bei den mit den Zisternenmembranen assoziierten Partikeln möglicherweise um funktionelle Proteine. Aufgrund der histochemischen Befunde, auf die später einzugehen sein wird, kann angenommen werden, daß es sich dabei u.a. auch um Nukleosiddiphosphatasen handeln könnte.

3.1.2. Kernlose Zellen

Die Verhältnisse in den 28 Tage kernlosen Zellen von A. med. und P. clift. nach Gefrierätzung stellen sich annähernd genau so dar, wie die in Normalzellen (Abb. 7, 8), d.h., Größe und Anzahl der Zisternen der noch vorhandenen Dictyosomen entsprechen denen der kernhaltigen Zellen. Jedoch erscheint die Anzahl der Dictyosomen reduziert, was auf eine Störung des Modus ihrer Bildung hinweist.

Partikuläre Komponenten auf den Innenseite der Membranen sind vorhanden (Abb. 7, 8). Ob allerdings quantitative oder qualitative Unterschiede gegenüber den Dictyosomen der kernhaltigen Zellen vorliegen, läßt sich derzeit nicht entscheiden.

Auffällig bei kernlosen Zellen ist, daß in der Nähe der Dictyosomen häufig relativ große "Vesikel" akkumuliert sind, die Vakuolencharakter besitzen (Abb. 7 d, f; s.a. Schema c, d). Eine definitive Klärung der Frage ihres Ursprungs und ihrer Funktion ist jedoch mit Hilfe der Gefrierätzmethode nicht möglich.

Ein weiteres Charakteristikum der kernlosen Zellen ist das Auftreten von Stärkeakkumulationen in den Plastiden. Dieser Befund kann als ein Indiz für einen reduzierten "Verbrauch" von Photosyntheseprodukten in kernlosen Zellen angesehen werden.

3.1.3. Puromycin behandelte Zellen

Puromycin blockiert das Zellwachstum von Acetabularia reversibel (Zetsche, 1966b). In gefriergeätzten Präparaten lassen sich Dictyosomen nur selten erkennen. Meist treten dictyosomenähnliche Strukturen auf, die aber nicht zweifelsfrei als Dictyosomen zu identifizieren sind (Abb. 9 b). Offensichtlich ist durch das in die Proteinbiosynthese eingreifende Antibiotikum auch die Bildung von Dictyosomen

beeinflußt, d.h., die Dictyosomen unterliegen einem "normalen" turnover, ihre Zahl wird aber mangels Neubildung reduziert (s. Schema).

Wie bei den wuchsgehemmten kernlosen Zellen treten auch bei den puromycinbehandelten Zellen starke Stärkeakkumulationen in den Plastiden auf (Abb. 9 a). Aufgrund der Tatsache, daß sowohl die Proteinbiosyntheseaktivität als auch die Zellwandbildung durch Puromycin blockiert wird, ist anzunehmen, daß - ähnlich den kernlosen Zellen - wegen reduzierter Abnahme von Photosyntheseprodukten durch das Zytoplasma Stärke in den Plastiden akkumuliert wird.

3.1.4. Verdunkelte Zellen

In den im Dunkeln aufgezogenen Zellen ist die Anzahl der Dictyosomen drastisch reduziert. Noch vorhandene Dictyosomen bestehen zwar auch aus der üblichen Anzahl Zisternen, jedoch ist ihr Durchmesser gegenüber den Dictyosomen in Normalzellen geringer. Besonders auffällig ist das Fehlen randständiger Golgi-Vesikel (Abb. 10 a-c). Obwohl die Anzahl der Thylakoide stark vermehrt ist (Werz, 1966; Abb. 10 d), läßt dies darauf schließen, daß die Funktionen der Zisternen, z.B. wegen mangelnder Anlieferung von Photosyntheseprodukten aus den Chloroplasten oder der unterbundenen Proteinbiosyntheseaktivität dieser Zellen, reduziert sind.

Daneben fallen nahezu kreisrunde Vesikel verschiedener Durchmesser (500-2000 Å) vor allem in zellwandnahen Zytoplasmabereichen auf (Abb. 10 e →). Es ist möglich, daß es sich hierbei um Golgi-Vesikel handelt, die aufgrund des sistierten Wachstums der verdunkelten Zellen, keine Verwendung für die Synthese von Zellwand finden können.

3.1.5. Cysten

Die Bildung von Cysten ist ein spezieller intracellulärer morphogenetischen Prozess, der mit der Bildung "Cystenspezifischer" Zellwand abschließt (Schulze, 1939; Werz, 1968a). In diesem Zusammenhange war die Frage offengeblieben, ob bei der Bildung von Cystenwand auch Dictyosomen beteiligt sind (Werz, 1968b).

Im zellwandständigen Zytoplasma von 4 Wochen alten Cysten von P. clift. finden sich Dictyosomen in großer Zahl (Abb. 13 a-f). Sie zeigen das typische Aussehen von Dictyosomen der erwachsenen Zellen. Die meisten der Dictyosomen besitzen randständig große Vesikel, was auf eine hohe Aktivität und Beteiligung an der Cystenwandbildung schließen läßt (Abb. 13). Daneben jedoch existieren auch viele Dictyosomen, die ohne Golgi-Vesikel sind. Die Dictyosomen in älteren Cysten (A. med.) sind offensichtlich weniger aktiv, da randständig kaum Vesikel auftreten (Abb. 14).

Im Falle einer Aufsicht auf das Dictyosom erkennt man die typischen Invaginationen (Abb. 13 a), die auch für Dictyosomen anderer Objekte beschrieben worden sind (Branton und Moor, 1964; Werz und Kellner, 1970). Das Auftreten von sogen. "fenestrated dictyosomes", wie sie von Werz (1974) nach $KMnO_4$-Fixierung beschrieben worden sind, konnte im Gefrierätzpräparat nicht beobachtet werden. Es ist anzunehmen, daß strukturelle Veränderungen bei dieser Art Fixierung erfolgten.

Auffällig ist das dictyosomenassozierte endoplasmatische Retikulum, welches das Dictyosom auf einer Seite gleichsam umfaßt. Aufgrund seines speziellen Aufbaues dürfte es mit dem von Lang (1963) beschriebenen "amplexus" homolog sein, der dadurch charakterisiert ist, daß die dem Dictyosom zugewendete Membran "glatt", d.h. ohne Ribosomen, die dem Dictyosom abgewendete Membran aber "rauh" durch anhaftende Ribosomen ist (Abb. 13 d →).

3.1.6. Gameten

Gametenzellen besitzen keine Zellwand. Erst bei jungen Zygoten wird charakteristische Zellwand gebildet. Unter der Voraussetzung, daß Dictyosomen vornehmlich in Prozesse der Zellwandbildung integriert sind, wäre anzunehmen, daß sie in den Gametenzellen "inaktiv" sind. Dies ist jedoch offensichtlich nicht der Fall, denn Gametenzellen besitzen einen wohlausgebildeten Golgi-Apparat in der Nähe des

Geißelpoles (Abb. 11). Es werden bis zu vier auf einmal angebrochene Golgi-Apparate gefunden (Abb. 11 e). In Gestalt und Größe entsprechen sie den Dictyosomen erwachsener Zellen, mit 5-7 Cisternen und randständigen Vesikeln. Im Zytoplasma finden sich allerdings wenige vesikuläre Elemente. Die Aufsicht auf Dictyosomen geben das bekannte Bild mit den randständigen Invaginationen (Abb. 11 a, c, d). Die Innenflächen der Cisternenmembranen sind mit Partikeln besetzt (Abb. 11 b, c, d).

3.1.7. Zygoten

Bei Zygoten, die etwa 20 Stunden alt waren, konnte eine erhöhte Anzahl von Dictyosomen nicht beobachtet werden. Es sind nur wenige "normale" Dictyosomen zu entdecken (Abb. 12). Im Gegensatz zur Gametenzelle ist jedoch die Zelle angefüllt mit vesikulären Elementen unterschiedlicher Größe, was darauf schließen läßt, daß u.a. auch die Dictyosomen aktiviert wurden (Abb. 12 a). Dies (s. Werz, 1974) könnte mit dem Befund im Einklang stehen, daß die Dictyosomenstruktur weniger geordnet als bei Gametenzellen erscheint, was auf einen hohen "turnover" der Zisternen schließen läßt.

3.2. Lokalisation der Nukleosiddiphosphatasen und ihr Verhalten unter verschiedenen Versuchsbedingungen

Der Suche nach spezifisch mit Dictyosomen assoziierten Enzymsystemen ging folgende Überlegung voraus:

Aus den Photosyntheseprozessen stammende phosphorylierte Monosaccharide werden z.T. enzymatisch in Nukleotidzucker umgewandelt (z.B. Ginsburg, 1964). So entsteht beispielsweise unter Mitwirkung von UDPG-pyrophosphorylase nach folgender Gleichung:

$$\text{Monose-1-phosphat} + \text{XTP} \rightleftharpoons \text{XDP-Monose} + PP_i$$

aus Glucose-1-phosphat und UTP UDP-Glucose und daraus durch Epimerisation UDP-Galaktose und aus Mannose-1-phosphat und GTP GDP-Mannose (Zetsche, 1965a). Mit Hilfe verschiedener Transferasen werden die Zuckeranteile dieser Nukleotidzucker zu verschiedenen Polysacchariden kondensiert, u.a. auch zu jenen, die für die Zellwandsynthese notwendig sind. Nach allgemeiner Ansicht erfolgen diese Reaktionen, die zu Polysaccharidvorstufen der Zellwand führen, in den Zisternen der Dictyosomen (Northcote und Pickett-Heaps, 1966; Mollenhauer und Morré, 1966). Aus dem Kondensationsprozeß werden demnach in den Zisternen neben Wasser laufend Nukleosiddiphosphate nach folgender Gleichung freigesetzt:

$$\left[\text{XDP-Z}\right]_n \xrightarrow{E} \text{XDP-}\left[\text{Z}\right]_n + (n-1)\,\text{XDP} + (n-1)\,H_2O$$

Damit diese enzymatisch katalysierte Reaktion nicht zum Stillstand kommt, wodurch die Bildung der Zellwandbausteine sistiert wäre, müssen vorallem die niedermolekularen Reaktionsprodukte abgebaut und/oder aus den Zisternen abtransportiert werden. Für die anfallenden Nukleosiddiphosphate (XDP) bestehen mehrere Möglichkeiten der Verarbeitung. Eine Möglichkeit wäre, XDP aus dem Membransystem zu translozieren, um es wieder zu XTP "aufzuladen". Dies ist jedoch nicht sehr wahrscheinlich, da bekanntlich die Austauschrate von Nukleotiden durch Membranen relativ gering ist (Strotmann und Berger, 1969). Näher liegt vielmehr die Annahme, daß XDP enzymatisch zu den leichter translozierbaren Nukleosidmonophosphaten (XMP) abgebaut wird. Damit wäre XDP aus der Reaktion eliminiert und hätte keinen Einfluß mehr auf den Reaktionsverlauf. Dieser Abbau würde von spezifischen Nukleosiddiphosphatasen katalysiert, die elektronenoptisch relativ einfach und sicher nachzuweisen sind (Novikoff und Goldfischer, 1961).

Beim histochemischen Nachweis der Nukleosiddiphosphatasen wird das bei der Reaktion:

$$XDP \xrightarrow{XDP\text{-ase}} XMP + P_i$$

freigesetzte Orthophosphat (P_i) simultan mit Bleiionen ausgefällt. Das entstehende, extrem schwerlösliche Bleiphosphat hat eine sehr hohe Massendichte, sodaß nach sorgfältigem Auswaschen freier Pb^{++}-Ionen die Orte der Enzym-

aktivität im elektronenmikroskopischen Präparat hinreichend genau bestimmt werden können.

Wenn diese Annahme auch für Acetabularia-Zellen gilt, müßten sich Nukleosiddiphosphatasen einerseits in den Dictyosomen lokalisieren, andererseits aber auch eine Beziehung zur Zellwandpolysaccharidsynthese erkennen lassen. Die Fragen, die sich daran anschließen, betreffen u.a. die Regulation der Enzymbildung, besonders auf dem Level der Transkription und der Translation. Unter diesen Aspekten wurden die im folgenden beschriebenen Versuche unternommen.

3.2.1. Normalzellen

In den normalen Zellen der beiden untersuchten Acetabularia-Arten A. med. und P. clift. lassen sich verschiedene, offensichtlich substratspezifische Nukleosiddiphosphatasen eindeutig den Dictyosomen zuordnen (Abb. 15, 16). Aufgrund der unterschiedlich starken Ausfällungen von Bleiphosphat in diesem Bereich ist anzunehmen, daß die verschiedenen Enzyme auch in verschieden hohen Aktivitäten vorliegen. In der Regel zeichnen sich die Enzyme in den Dictyosomen der Rhizoide durch eine geringere Aktivität gegenüber denen in den Vorderstücken aus (Abb. 17). Dies mag damit im Zusammenhang stehen, daß im Rhizoidbereich nur noch geringe Zellwandsynthese stattfindet. Es ist zudem möglich, daß die im Rhizoidbereich besonders stark akkumulierten Polyphosphate und der hohe Stärkegehalt der Plastiden damit

korreliert sind.

3.2.1.1. Adenosindiphosphatase

In beiden Acetabularia-Arten findet sich nur eine ganz geringe Menge Adenosindiphosphatase (ADP-ase) in den Dictyosomen (Abb. 15 a, 16 a). Hinsichtlich der Aktivität unterscheiden sich Vorderstücke und Rhizoide nur geringfügig (Abb. 17 a). In anderen Zellorganellen und im Zytoplasma lassen sich unter den angewendeten Bedingungen keine Enzymaktivitäten feststellen.

3.2.1.2. Cytidindiphosphatase

Cytidindiphosphatase liegt in den Dictyosomen der Vorderstücke beider Acetabularia-Arten in sehr hoher Aktivität vor. Bei P. clift. scheint die Enzymaktivität höher zu sein als bei A. med. (Abb. 15 b, 16 b). In den Rhizoiden ist die Enzymaktivität drastisch reduziert (Abb. 17 b). Auch Cytidindiphosphatase ist ausschließlich in den Zisternen und Vesikeln des Dictyosoms lokalisiert.

3.2.1.3. Guanosindiphosphatase

Die Dictyosomen der Vorderstücke der untersuchten Acetabularia-Arten weisen in der Regel eine hohe Guanosindiphosphatase-Aktivität auf, die von Dictyosom zu Dictyosom ziemlich stark schwanken kann (Abb. 15 c, 16 c). In den Dictyosomen der Rhizoide läßt sich nur wenig GDP-ase nach-

weisen (Abb. 17 c). Neben GDP-ase-Aktivität in den Dictyosomen sind bei A. med. häufig auch im Zytoplasma Niederschläge vorhanden, die auf eine Aktivität auch außerhalb der Dictyosomen hinweisen (Abb. 15 c).

3.2.1.4. Inosindiphosphatase

Die Dictyosomen der Vorderstücke von A. med. und P. clift. zeichnet eine sehr hohe Inosindiphosphatase-Aktivität aus (Abb. 15 d, 16 d). Zisternen und Golgi-Vesikel sind meist vollständig mit Phosphat-Niederschlägen ausgefüllt. In den Dictyosomen der Rhizoide dagegen findet sich nur eine relativ geringe Enzymaktivität (Abb. 17 d).

3.2.1.5. Uridindiphosphatase

A. med. zeichnet sich durch eine sehr hohe Uridindiphosphatase-Aktivität aus (Abb. 15 e). Bei P. clift. ist sie dagegen sehr gering (Abb. 16 e). Meist fehlt sogar jeglicher Niederschlag im Dictyosom. Bei A. med. treten im Gegensatz zu P. clift. häufiger Bleiniederschläge im Zytoplasma auf, die auf Enzymaktivitäten außerhalb der Dictyosomen hinweisen (Abb. 15 e). In den Dictyosomen der Rhizoide ist die Enzymaktivität sehr viel geringer (Abb. 17 e).

3.2.1.6. Thiaminpyrophosphatase

Thiaminpyrophosphatase wurde, obwohl es sich dabei nicht um eine Nukleosiddiphosphatase handelt, aus folgenden Gründen

in die Untersuchungen einbezogen:

Bei Acetabularia besteht die Zellwand zwar hauptsächlich aus Hexosebausteinen (Mannose, Glucose, Galaktose), daneben finden sich aber auch verschiedene Pentosen (Xylose, Rhammose; s. Zetsche, 1967). Thiaminpyrophosphat ist nach verschiedenen Ansichten u.a. an der Umwandlung von Hexosen zu Pentosen beteiligt und zwar u.a. als Coenzym an der Decarboxylierung von α-Ketosäuren zu Pentosen. α-Ketosäuren entstehen durch Dehydrierung von Hexosen.

Unter dieser Voraussetzung könnte die Aktivität der Thiaminpyrophosphatase einen Hinweis auf eine mögliche Regulation der Pentosebildung im Zellstoffwechsel geben, da dieses Enzym die endständige Phosphatgruppe des TPP abspaltet und es damit als Coenzym unbrauchbar macht.

In den elektronenmikroskopischen Präparaten findet sich TPP-ase in mittelmäßiger Aktivität in den Dictyosomen von A. med. und P. clift. (Abb. 15 f, 16 f). Unterschiede zwischen den Arten waren nicht zu erkennen. Zuweilen ist TPP-ase-Aktivität im zellwandnahen Zytoplasma nachzuweisen. In den Rhizoiden besitzen die Dictyosomen so gut wie keine TPP-ase-Aktivität (Abb. 17 f).

3.2.2. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen in kernlosen Zellen

Eine Möglichkeit, die Kernabhängigkeit der Bildung von Enzymen nachzuweisen, ist, Zellen künstlich kernlos zu machen und das Verhalten der verschiedenen Enzyme im kernlosen System über längere Zeit zu beobachten. Diese Möglichkeit läßt sich bei Acetabularia-Zellen relativ einfach realisieren, indem man das Rhizoid, in dem der Kern lokalisiert ist, abschneidet. Die Zellen überleben auch ohne Kern längere Zeit, wobei sie z.T. noch zu morphogenetischen Leistungen befähigt sind (z.B. Hämmerling, 1931). Bei diesen Versuchen nun wurde die Aktivität der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in 14 und 28 Tage kernlosen Zellen geprüft.

Auch im Schnittpräparat erweist sich die Struktur der Dictyosomen in kernlosen Zellen als wenig verändert, wie dies in den Gefrierätzpräparaten schon deutlich wurde, d.h., die Zahl der Zisternen und ihr Durchmesser verändert sich nicht. Dagegen verringert sich aber die Gesamtzahl der Dictyosomen. Bei Amoeba proteus verringert sich Größe und Zahl der Dictyosomen (Flickinger, 1968).

Die Aktivität der Nukleosiddiphosphatasen nimmt in kernlosen Zellen gegenüber den Kontrollzellen ab, und zwar ist die Aktivität umso geringer, je länger die Zelle ohne den Kern lebt, d.h. nach 28 Tagen ist sie geringer als nach

14 Tagen. Dies wird besonders deutlich an denjenigen Nukleosiddiphosphatasen, die in hoher Aktivität in den Dictyosomen von Normalzellen vorliegen (Abb. 18-21). Bei A. med. gilt dies z.B. für IDP- und UDP-ase; bei P. clift. für CDP-ase und IDP-ase. Liegt das Enzym in geringer Aktivität vor, wie ADP-ase in beiden Acetabularia-Arten oder UDP-ase bei P. clift., ist ihre Abnahme in kernlosen Zellen nicht signifikant. Für TPP-ase, das in beiden Acetabularia-Arten in mittlerer Aktivität vorhanden ist, wird eine Verringerung der Aktivität merkbar. In kernlosen Zellen fallen umfangreiche Polyphosphatansammlungen auf.

3.2.3. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen nach Actinomycin-D-Behandlung

Bekanntlich hemmt Actinomycin-D die Synthese von RNS an der DNS dadurch, daß es sich intercalar an das Guanin der DNS anlagert und so die Tätigkeit der RNS-Polymerase blockiert. Es kann also keine RNS mehr transkribiert werden (für Acetabularia: Schweiger, 1963; Zetsche, 1964a und b; Brachet et al., 1964; für Amoeba proteus: Flickinger, 1973).

Bekannt ist auch, daß nach Actinomycin-D-Behandlung Dictyosomen verändert sind. Sie werden entweder destrukturiert wie bei Acetabularia (Werz, 1964b) und bei Micrasterias (Tourte, 1972), oder aber ihre Zahl und Größe nimmt ab wie

bei A. proteus (Flickinger, 1973).

Die Versuche, bei denen die Wirkung von Actinomycin-D auf die Aktivität der Nukleosiddiphosphatasen getestet werden sollte, bestätigen diese Befunde. Die Zahl der Dictyosomen ist in Actinomycin-D-behandelten Zellen geringer und sie erscheinen meist mehr oder weniger degeneriert. Trotzdem aber finden sich in diesen Dictyosomen noch Ausfällungen von Bleiphosphat, die das Vorhandensein von Nukleosiddiphosphatase-Aktivität anzeigen. Gegenüber unbehandelten Pflanzen sind die Aktivitäten allerdings etwas geringer. Dies gilt für beide Acetabularia-Arten (A. med. Abb. 22; P. clift. Abb. 24). Behandelt man kernlose Zellen zusätzlich mit Actinomycin-D, so verstärken sich die beschriebenen Symptome, was darauf schließen läßt, das Actinomycin-D nicht nur an nukleärer DNS angreift (Abb. 23 und 25). Auffällig ist zudem auch in Actinomycin-D-behandelten Zellen die Anhäufung von Stärke in den Plastiden und Polyphosphatgranula. Dies ist nach allen unseren Erfahrungen ein Anzeichen dafür, daß der Zellstoffwechsel reduziert ist. Nach Zetsche (1964a und b) sollte dies allerdings in Actinomycin-behandelten Zellen nicht der Fall sein.

3.2.4. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen nach Puromycin-Behandlung

Puromycin wirkt auf dem Level der Translation, da es ein

natürliches Analogon von Aminoacyl-t-RNS, insbesondere von Phenylalanin- oder Tyrosin-t-RNS ist. Das Puromycin wird über seine Aminogruppe an die am Ribosom entstehende Polypeptidkette geknüpft. Da das Puromycin sich im Gegensatz zur t-RNS nicht mehr vom Polypeptid löst, ist das Wachstum der Polypeptidkette unterbunden. Als Folge davon werden unvollendete Polypeptidketten, die am N-terminalen Ende das Puromycin enthalten, vom Ribosom freigesetzt (Kowalski, persönl. Mitt.).

Die Wirkung von Puromycin auf Acetabularia-Zellen ist bekannt und ist von Brachet et al. (1964) und Zetsche (1966b) beschrieben worden. Unter Puromycin-Einfluß erfahren die Dictyosomen strukturelle Veränderungen, die sich darin äußern, daß die Zisternen degenerieren (Werz, 1964b). Diese Tatsache konnte in den vorliegenden Versuchen sowohl anhand von Gefrierätzpräparaten (s.o.) als auch in Schnittpräparaten bestätigt werden: die Struktur der Dictyosomen ist nicht gut erhalten und ihre Zahl ist geringer.

In Puromycin-behandelten Zellen werden die Aktivitäten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen sehr stark beeinflußt. Sie sind in beiden Acetabularia-Arten auf ein Minimum reduziert (Abb. 26, 28). Dieser Effekt verstärkt sich in kernlosen Zellen (Abb. 27, 29). Außerdem ist in den Chloroplasten sehr viel Stärke und im Zytoplasma Polyphosphat akkumuliert, was wiederum auf gestörte Stoffwechselreaktio-

nen hinweist.

3.2.5. Verhalten der Dictyosomen und der Nukleosiddiphosphatasen in verdunkelten Zellen

Hält man Acetabularia-Zellen in Dunkelheit, so wird Protein abgebaut (Werz, 1960) und die Zellorganellen, z.B. Plastiden, Mitochondrien, verändern z.T. ihre Struktur (Werz, 1966). Werz (1964b) hat außerdem Veränderungen der Dictyosomen beschrieben. Seine Befunde konnten in den vorliegenden Versuchen bestätigt und/oder in einigen Punkten ergänzt werden.

Die Zahl der Dictyosomen wird in verdunkelten Zellen stark reduziert und ihre Struktur degeneriert zunehmend mit der Dauer der Verdunklung. Eine Vermehrung der Zisternen pro Dictyosom, wie sie Werz (1964b) festgestellt hat, konnte nicht festgestellt werden. Die Frage bleibt offen, ob es sich bei den Dictyosomen, die destrukturiert erscheinen, um aus perinukleären Körpern entstandene, nicht fertig ausdifferenzierte oder um im Abbau befindliche Dictyosomen handelt.

Das Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in verdunkelten Zellen ist nicht ganz einheitlich, meist aber ist die Aktivität in den verbleibenden Dictyosomen etwas geringer als bei den Kontrollen. Dies gilt für beide unter-

suchte Acetabularia-Arten (Abb. 30-33). Für die einzelnen Nukleosiddiphosphatasen ergibt sich folgendes Bild:

Da ADP-ase in Normalzellen nur in geringer Aktivität vorliegt, wirkt sich hier die Dunkelbehandlung kaum aus. So findet sich auch noch in Dictyosomen von 28 Tage im Dunkeln gehaltenen Zellen geringe ADP-ase Aktivität in den Dictyosomen (Abb. 30 a, 31 a, 32 a, 33 a). Die Aktivität von CDP-ase, die in Normalzellen relativ hoch ist, verringert sich in 14 Tage verdunkelten Zellen und erreicht nach 28 Tagen Dunkelheit ein Minimum (Abb. 30 b, 31 b, 32 b, 33 b). Die Aktivität von GDP-ase ist in 14 Tage verdunkelten Zellen annähernd so hoch wie in den Kontrollzellen. Nach 28 Tagen Dunkelheit ist sie jedoch stark reduziert (Abb. 30 c, 31 c, 32 c, 33 c). IDP-ase, das in den Dictyosomen der beiden untersuchten Acetabularia-Arten in sehr hoher Aktivität vorliegt, ist schon nach 14 Tagen Dunkelbehandlung in seiner Aktivität stark reduziert, nach 28 Tagen weiter vermindert (Abb. 30 d, 31 d, 32 d, 33 d). A. med. verfügt über sehr viel UDP-ase Aktivität in seinen Dictyosomen im Gegensatz zu P. clift., wo die Aktivität ganz gering ist. Werden die Zellen 14 Tage verdunkelt, bleibt bei A. med. die Aktivität annähernd so hoch wie in den Kontrollzellen. Bei P. clift. läßt sich aufgrund der geringen Bleiausfällungen kein Unterschied feststellen. Nach 28 Tagen Dunkelheit ist auch in A. med.-Zellen die Aktivität von UDP-ase auf ein Minimum reduziert (Abb. 30 e, 31 e, 32 e, 33 e). Eine

Minderung seiner Aktivität erleidet auch TPP-ase in den Dunkelzellen (Abb. 30 f, 31 f, 32 f, 33 f).

3.2.6. Lokalisation von Nukleosiddiphosphatasen in Gametenzellen

Die Tatsache, daß es bei allen Versuchen Zellen gibt, in denen neben Dictyosomen mit hoher Enzymaktivität immer wieder Dictyosomen anzutreffen sind, die offensichtlich nur wenig oder keine Aktivität desselben Enzyms aufweisen, veranlaßte die Frage nach dem Verhalten der Nukleosiddiphosphatasen während der Entwicklung der Acetabularia-Zellen, d.h. nach der Ausbildung der Heterofunktionalität bei Dictyosomen.

Um darüber Aufschlüsse zu erhalten, wurden zuerst die Verhältnisse in dem frühesten Entwicklungsstadium der Acetabularia-Zellen geprüft, in den Gametenzellen.

Das Vorhandensein oder Fehlen von aktiven Enzymen entspricht etwa den Verhältnissen bei erwachsenen Pflanzen. Daß Gameten über aktive Nukleosiddiphosphatasen verfügen ist jedoch erstaunlich, da Gameten keine Zellwandsynthese durchführen. Ihre Bildung ist also, so scheint es, nicht an eine durch ihre Funktion charakterisierte Entwicklungsphase gebunden, obwohl eine gewisse Kernabhängigkeit angenommen werden muß und damit ein phasenspezifisches Verhalten naheläge (Abb. 34 und 38).

Wie in erwachsenen Zellen so liegt auch in den Dictyosomen von Gameten-Zellen beider Acetabularia-Arten ADP-ase in geringer Aktivität vor (Abb. 34 a, 38 a). In den Zellkernen jedoch sind starke Bleiphosphat-Ausfällungen enthalten (Abb. 38 a), die auf ADP-ase-Aktivität innerhalb des Zellkerns hinweisen und erneut die Frage nach der Spezifität der XDP-asen aufwerfen, insbesonders deshalb, weil verschiedene Autoren annehmen, daß Nukleosiddiphosphatasen auch Nukleosidtriphosphate angreifen (s. z.B. Geyer, 1973). CDP-ase-Aktivität findet sich in den Dictyosomen von A. med. in geringer (Abb. 34 b), von P. clift. in größerer Menge (Abb. 38 b). Bei P. clift. und A. med. läßt sich GDP-ase-Aktivität in Dictyosomen (variable Mengen), häufig aber auch in isolierten Vesikeln und meist in hoher Aktivität in der Kernhülle feststellen (Abb. 34 c, 38 c). Wie in erwachsenen Zellen so ist auch bei Gameten IDP-ase in hoher Aktivität in den Dictyosomen vorhanden. Außerdem findet sich in verschieden starker Aktivität in der Kernhülle, zuweilen auch in einzelnen Vesikeln in Zytoplasma (Abb. 34 d, 38 d). Auch UDP-ase ist in den Dictyosomen der Gameten aktiv, bei A. med. mehr als bei P. clift., wo es, wie auch in den Dictyosomen der erwachsenen Zellen, nur ganz geringe Aktivität besitzt. Bei A. med. ist zudem die Kernhülle durch UDP-ase-Aktivität gekennzeichnet (Abb. 34 e, 38 e). TPP-ase-Aktivität findet sich in mittlerer Stärke ausschließlich in den Dictyosomen der beiden Gametenarten (Abb. 34f, 38 f).

3.2.7. Lokalisation von Nukleosiddiphosphatasen in Zygoten

Zygoten entstehen durch Fusion von zwei haploiden Isogameten (Abb. 3 O). In ganz jungen, d.h. gerade durch Fusion entstandenen Zygoten, ist noch keine Zellwand vorhanden. Ihre Synthese setzt erst nach einigen Stunden ein. Um die These über die Korrelation von Nukleosiddiphosphatasen in Dictyosomen einerseits und Zellwandbildung andererseits zu prüfen, wurden Zygoten verschiedenen Alters untersucht.

3.2.7.1. Gerade entstandene Zygoten (A. med.)

Gerade entstandene Zygoten besitzen gut ausgebildete Dictyosomen die sie wahrscheinlich von den beiden Gametenzellen übernommen haben. Es finden sich in ihnen Aktivitäten aller getesteter Nukleosiddiphosphatasen. Die Aktivitäten sind aber gegenüber den Gametenzellen durchwegs sehr gering. Außerhalb der Dictyosomen sind keine Aktivitäten festzustellen und nur in der Kernhülle lassen sich begrenzte Bezirke, manchmal von UDP-ase-Aktivität und gelegentlich auch von GDP-ase-Aktivität, registieren (Abb. 35 a-f).

3.2.7.2. 6 Stunden alte Zygoten (A. med.)

Die Zahl der Dictyosomen ist offensichtlich bei sechs Stunden alten Zygoten geringer. Die Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten in den Zygoten sind im allgemeinen sehr gering. Bei CDP-ase, finden sich in großen Vesikeln kleine Areale

mit CDP-ase-Aktivität. TPP-ase ist anscheinend auch nicht aktiv. GDP-ase liegt in den Dictyosomen vor, ist zuweilen jedoch auch in der Kernhülle und an der äußeren Zellmembran zu beobachten (Abb. 36 a-f). IDP-ase ist in einzelnen Dictyosomen sehr aktiv. Sie findet sich auch in der Kernhülle und an der äußeren Zytoplasmamembran. UDP-ase-Aktivität ist in den Dictyosomen enthalten, findet sich aber auch in der Kernhülle und in Vesikeln in der Nähe der Zellwand.

3.2.7.3. 24 Stunden alte Zygoten (A. med.)

Nach 24 Stunden Wachstum hat bei den Zygoten die Zellwandbildung eingesetzt. Die Nukleosiddiphosphatasen sind in ihrer Aktivität aber nicht erhöht außer vielleicht UDP-ase, die in den Dictyosomen und einzelnen Vesikeln in erhöhter Aktivität vorliegt, was möglicherweise als Indiz dafür gewertet werden könnte, daß vornehmlich UDP-Zucker verarbeitet werden (Abb. 37 a-f).

3.2.7.4. 3 Stunden alte Zygoten (P. clift.)

Nach drei Stunden finden sich in den Dictyosomen von P. clift. größere Aktivitäten von GDP-ase und IDP-ase. IDP-ase-Aktivität findet sich außerdem stellenweise im Enchylem des endoplasmatischen Retikulums und zuweilen in der Kernhülle (Abb. 39 a-f). ADP-ase, CDP-ase, UDP-ase und TPP-ase sind anscheinend nicht oder nur wenig aktiv. Da diese Enzyme

jedoch in den Gametenzellen und in den jungen Zygotenzellen aktiv waren, ist zu schließen, daß sie inaktiviert wurden.

3.3. Quantitative Bestimmung der Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten in vitro

Die Untersuchungen über die quantitative Erfassung der verschiedenen XDP-asen einer Zelle oder eines Zellteils wurden durchgeführt, um eine mögliche Korrelation zu den in situ-Befunden erkennen zu können. Es stellt sich jedoch heraus, daß die erhaltenen Ergebnisse nur zum Teil auf die in situ vorliegenden Verhältnisse übertragbar waren. Offensichtlich beeinflussen nicht kontrollierbare Parameter, die unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen auftreten, den Ablauf der Reaktion bei der Bestimmung. Die erhaltenen Resultate werden daher lediglich als grobe Orientierungshilfe angesehen.

Grundsätzlich ist bei diesen Versuchen anzunehmen, daß - von wenigen Ausnahmen abgesehen - in vitro höhere Aktivitäten gefunden wurden, als es nach den in situ-Beobachtungen erkennbar war. Möglicherweise ist dies Ausdruck dafür, daß viele XDP-asen auch in anderen Zellkompartimenten als nur in Dictyosomen enthalten sind, daß diese jedoch durch die für den in situ-Nachweis erforderlichen Präparationsschritten inaktiviert oder - mangels stabiler Bindung - ausgewaschen werden.

Zusätzlich stellt sich in diesem Zusammenhange auch die Frage, ob Nukleosiddiphosphatasen auch Nukleosidtriphosphatase-Aktivität besitzen, was von verschiedene Autoren angenommen wird (z.B. Geyer, 1973). Unter diesem Gesichtspunkt könnte z.B. die in vitro extrem hohe Aktivität der ADP-ase, die im in situ-System als extrem schwach in Dictyosomen festgestellt wurde, eine mögliche Erklärung finden.

3.3.1. Verteilung in Normalzellen

Trotz der eingangs gemachten Einschränkungen wird in Übereinstimmung mit den E.M.-Befunden auch in den in vitro-Experimenten eine polare Verteilung der Aktivitäten bestimmter XDP-asen deutlich:

Vorderstücke zeichnen sich in der Regel durch höhere Aktivitäten aus als die basalen Zellteile. Dies gilt für CDP-ase, GDP-ase, IDP-ase und UDP-ase (Tabelle 1; s. Seite 52). Eine Ausnahme ist ADP-ase, bei der in allen geprüften Kulturen im basalen Zellteil eine höhere Aktivität gefunden wurde.

3.3.2. Verhalten in kernlosen Zellen

In vitro zeigen die verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen ein anderes Verhalten in kernlosen Zellen, als es bei den in situ-Experimenten festgestellt worden war: offensichtlich erfolgt in toto keine Aktivitätsabnahme, wie sie ja

für die dictyosomenassoziierten Enzyme nachgewiesen wurde. In einigen Fällen (ADP-ase, IDP-ase und UDP-ase bei P. clift.; ADP-ase, CDP-ase und UDP-ase bei A. med.) wurde sogar eine Aktivitätssteigerung gemessen (Tabelle 2; s. Seite 53). Dieses konträre Verhalten zwischen in vitro und in situ könnte darin begründet sein, daß dictyosomenassoziierte Enzyme, mangels kontinuierlicher Nachlieferung in das Dictyosom, im Laufe der Zeit vermindert werden, daß jedoch in anderen Zellkompartimenten aufgrund noch vorhandener Information XDP-asen de novo synthetisiert werden, die allerdings für den in situ-Test nicht genügend stabilisiert sind.

3.3.3. Verhalten in Puromycin behandelten Zellen

Unter Puromycineinfluß trat eine Verringerung der in toto-Aktivität der meisten XDP-asen auf, wobei offensichtlich Vorderstücke mehr geschädigt waren, als Hinterstücke, bei denen die Aktivitäten annähernd gleich hoch bleiben (Tabelle 3; s. Seite 54).

Eine Ausnahme machte wiederum ADP-ase bei P. clift.: die Aktivität wurde sowohl im Vorderstück als auch im Hinterstück über 14 Tage erhöht. Dies spricht dafür, daß entweder eine nicht puromycinsensitive Aktivierung des Enzyms erfolgt ist, oder daß es in nicht puromycinsensitiven Translationssystemen de novo synthetisiert wurde.

3.3.4. Verhalten in verdunkelten Zellen

Grundsätzlich bewirkt Verdunklung der Zellen eine Verringerung der XDP-ase-Aktivität, sowohl bei P. clift., als auch bei A. med. Dies gilt sowohl für Vorderstücke, wie auch für Hinterstücke. Bei beiden Arten sind besonders GDP-ase, IDP-ase und UDP-ase betroffen (Tabelle 4; s. Seite 55). CDP-ase und wiederum ADP-ase verhalten sich jedoch anders.

Während bei CDP-ase aus A. med. ein Gleichbleiben, aus P. clift. eine schwache Zunahme an Aktivität registriert wurde, erfolgte bei ADP-ase aus P. clift. in den ersten 2 Wochen Dunkelheit eine Aktivitätssteigerung in den Vorderstücken um ca. 76%.

Ganz allgemein wird angenommen, daß in Dunkelheit die Proteinnettosynthese bei Acetabularia-Zellen sistiert ist (Stich, 1951). Offensichtlich gilt dies nicht für die ADP-ase in Vorderstücke.

Da andererseits jedoch festgestellt worden war, daß unter Dunkelbedingungen die Größe und die Zahl der Mitochondrien sowie die Größe der Tubuli vermehrt werden (Werz, 1966; Zerban, unveröff.), liegt die Annahme nahe, daß die Vermehrung der ADP-ase mit der Größenänderung und der Vermehrung dieser Zellorganelle in Zusammenhang steht, eine Annahme die möglicherweise auch das Verhalten dieses

Enzyms unter Puromycineinfluß und in kernlosen Zellen erklären könnte.

Tabelle 1.

Verteilung der Nukleosiddiphosphatasen in Normalzellen.

Menge des umgesetzten Substrates als Maß für die Aktivität der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in µMol/ml (s. Material und Methoden).

(Mittelwerte aus je sechs bzw. sieben Experimenten mit verschiedenen Kulturen.)

	A. med.		P. clift.	
	V µM/ml	Rh µM/ml	V µM/ml	Rh µM/ml
ADP	1.79	1.88	1.98	2.30
CDP	0.36	0.27	1.19	0.77
GDP	1.51	0.97	2.13	1.32
IDP	1.31	0.84	2.09	1.26
UDP	1.72	1.12	2.66	1.44

Tabelle 2.

Gehalt an Nukleosiddiphosphatasen in kernlosen Zellen. Menge des umgesetzten Substrates als Maß für die Aktivität der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in µMol/ml (s. Material und Methoden).

Acetabularia mediterranea

	Kontrolle (KH)		14 Tage kernlos		28 Tage kernlos	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ADP	2.10	1.46	1.56	1.41	1.46	1.66
CDP	0.00	0.39	0.34	0.39	1.41	1.02
GDP	1.66	1.02	0.97	0.97	0.97	0.97
IDP	1.17	1.27	1.17	1.12	0.92	0.78
UDP	1.46	1.07	1.31	1.36	1.22	0.68

Polyphysa (A.) cliftonii

	Kontrolle (KH)		14 Tage kernlos		28 Tage kernlos	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ADP	2.68	2.68	2.54	1.95	1.80	2.00
CDP	1.02	1.17	1.17	1.17	-	-
GDP	1.90	1.52	2.54	1.52	2.10	1.36
IDP	2.49	1.52	2.78	1.66		
UDP	3.42	1.95	3.71	2.15	2.93	1.75

Tabelle 3.

Gehalt an Nukleosiddiphosphatasen in Puromycin behandelten Zellen.

Menge des umgesetzten Substrates als Maß für die Aktivität der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in µMol/ml (s. Material und Methoden).

Acetabularia mediterranea

	Kontrolle (KH)		Puromycin/ kernhaltig		Puromycin/ kernlos	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ACP	1.46	1.46	1.41	1.41	1.07	1.17
CDP	0.39	0.19	0.43	0.43	0.43	0.43
GDP	1.12	0.87	1.41	0.97	1.02	1.17
IDP	1.80	0.92	1.56	1.17	0.68	1.68
UDP	1.85	1.22	0.92	0.73	0.87	0.78

Polyphysa (A.) cliftonii

	Kontrolle (KH)		Puromycin/ kernhaltig		Puromycin/ kernlos	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ADP	1.31	2.49	2.54	2.59	2.54	2.44
CDP	1.46	0.87	0.77	0.63	0.97	0.77
GDP	1.95	0.92	1.41	1.02	1.90	1.22
IDP	1.80	1.02	1.41	1.07	1.56	1.02
UDP	2.68	1.22	1.46	1.17	1.80	0.77

Tabelle 4.

Gehalt an Nukleosiddiphosphatasen in verdunkelten Zellen.

Menge des umgesetzten Substrates als Maß für die Aktivität der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in µMol/ml (s. Material und Methoden).

Acetabularia mediterranea

	Kontrolle (KH)		14 Tage verdunkelte Zellen		28 Tage verdunkelte Zellen	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ADP	1.02	1.75	1.71	1.12	1.27	1.56
CDP	0.78	0.29	1.07	0.68	0.24	0.68
GDP	1.61	0.83	0.97	0.73	0.68	0.48
IDP	1.27	0.58	1.02	0.68	0.63	0.43
UDP	1.75	1.07	0.83	0.68	0.78	0.68

Polyphysa (A.) cliftonii

	Kontrolle (KH)		14 Tage verdunkelte Zellen		28 Tage verdunkelte Zellen	
	V	Rh	V	Rh	V	Rh
ADP	2.00	2.10	3.32	2.54	2.83	2.05
CDP	1.71	0.43	0.73	0.43	0.77	0.68
GDP	2.54	1.31	0.78	0.53	0.68	0.68
IDP	2.29	1.71	0.87	0.58	0.39	0.73
UDP	2.83	1.52	1.22	0.77	0.58	0.00

4. DISKUSSION

4.1. Methodisch bedingte Schwierigkeiten

Bei der Beurteilung der Ergebnisse der einzelnen Experimente müssen gewisse Faktoren berücksichtigt werden, die die Ergebnisse u.U. aufgrund der angewendeten Methoden negativ beeinflussen könnten.

a) Beim histochemischen Enzymnachweis besteht die Gefahr, daß durch die Vorfixierung mit Glutaraldehyd die Enzyme partiell inaktiviert werden. Die Enzyme, die evtl. "frei", d.h. nicht membrangebunden, im Zytoplasma oder im Stroma der Mitochondrien und Chloroplasten vorliegen, werden besonders anfällig gegenüber den Fixierungsagenzien sein. Außerdem muß angenommen werden, daß die Fixierungsmittel z.B. die Permeabilität von Membranen beeinflussen. Ein Hinweis hierauf ergibt sich aus der Tatsache, daß bei histochemischen Reaktionen an Gefrierschnitten - also im nativen Zustand - diese erheblich länger inkubiert werden müssen als konventionell behandelte Gewebeproben, um unter denselben Bedingungen dieselben Ergebnisse zu bekommen (Morgenstern, pers. Mitt.). Das heißt also, daß die Membranen in fixierten Zellen nicht mehr oder nur noch partiell als Barrieren wirken können. Damit könnten dann auch bei den nachfolgenden Operationen "lösliche" Enzyme leichter diffundieren bzw. durch Puffer oder während der Entwässerung ausgewaschen werden. Ein großer Teil der Enzyme entgeht so

dem ultrahistochemischen Nachweis.

Wahrscheinlich liegt hierin begründet, daß im in vitro-Versuch z.T. höhere Enzymaktivitäten gemessen worden sind, als von den elektronenmikroskopischen Bildern her zu erwarten war. In vitro wird der Gehalt an XDP-ase der gesamten Zelle erfaßt, ohne daß eine Inaktivierung durch Fixierungsmittel oder eine Auswaschung stattgefunden hätte.

b) Bei der Anwendung von Antibiotika muß in Betracht gezogen werden, daß Actinomycin und Puromycin in Konzentrationen appliziert wurden, die unphysiologisch hoch sind und u.U. schon dadurch in der Zelle schwerwiegende Schäden anrichten, die ihrerseits einen Verlust von Enzymaktivität bedingen könnten.

Weiter muß angemerkt werden, daß die experimentellen Beeinflussungen nicht punktuell ansetzen, sondern relativ komplexer Natur waren. Actinomycin wirkt z.B. sicher nicht allein auf die Transkription nukleärer, sondern auch auf die an mitochondrialer oder plastidärer DNS. Außerdem wird die Hemmung der Transkription nicht allein die Bildung von m-RNS, sondern natürlich auch die Bildung von t-RNS und besonders auch die Synthese von r-RNS im Nukleolusbereich des Kerns und damit die Bildung von Ribosomen betreffen.

c) Auch in den Dunkelexperimenten ist nicht allein der Ablauf der Photosyntheseprozesse gestört. So wird dabei nicht nur die Bildung von Photosyntheseprodukten für die Polysaccharidsynthese eingestellt, sondern auch die Bildung ribosomaler Einheiten reduziert. Dies läßt sich u.a. aus der Reduktion der Nukleoli schließen, die durch licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen belegt worden ist (Stich, 1951; Werz, 1962). Dies dürfte ein Grund sein, weshalb die Proteinnettosynthese in Dunkelzellen und dementsprechend auch die Synthese von Enzymen sistiert ist (mit Ausnahme von ADP-ase).

4.2. Wechselwirkung von Funktion und Struktur

Nach allgemeiner Ansicht dienen Dictyosomen der Exkretion und Sekretion bestimmter Stoffwechselprodukte der Zelle (Literatur s. Sievers, 1965; Whaley, 1966; Schnepf, 1969; Morré et al., 1971). Dabei erfolgt nicht nur ihre Separation vom Grundplasma durch Abgrenzung mit einer Membran, um als Golgi-Vesikel vom intra- zum extraplasmatischen Raum befördet werden zu können, sondern im Lumen der Zisternen findet unter anderem auch eine Kondensation bzw. Synthese polymerer Substanzen aus monomeren Einheiten statt, die aus der Zelle ausgeschleust werden sollen. Bei pflanzlichen Dictyosomen handelt es sich vornehmlich um Polymerisationsprozesse, bei denen Polysaccharidvorstufen gebildet werden, die als Zellwandbausteine Verwendung finden (z.B. Sievers, 1963; Northcote und Pickett-Heaps, 1966).

Die Zellwände der Acetabularia-Zellen bestehen aber nicht nur aus Polysacchariden (Miwa et al., 1961; Werz, 1963; Zetsche, 1967), sondern zu einem geringen Prozentsatz auch aus Polypeptiden (Göke, unveröff.). Während bei tierischen Zellen nachgewiesen wurde, daß in den Zisternen der Dictyosomen Glykoproteide gebildet werden (Hirsch, 1960; Caro, 1961), ist die Frage bei pflanzlichen Dictyosomen, so auch bei Acetabularia, noch offen, ob neben der Kondensation von Monosen zu Polysacchariden, analog zu den tierischen Dictyosomen, auch eine Bildung von Zellwandpolypeptiden erfolgen kann, oder ob dieser Prozeß in anderen Reaktionsräumen stattfindet. Um diese Frage beantworten zu können, müßte man Dictyosomen oder Dictyosomen-Vesikel isolieren und ihren Inhalt biochemisch charakterisieren. Dies gelang bei Acetabularia-Zellen noch nicht. Der histochemische Nachweis, daß in den Zisternen Proteine enthalten sind, reicht als Beweis nicht aus; denn nichtzellwandassoziierte Proteine, wie z.B. XDP-asen, sind ebenfalls in den Zisternen enthalten. Auch die gefrier-geätzten Präparate zeigen zwar globuläre Proteinpartikel auf der Innenseite der Zisternen, dies kann aber nicht zur Klärung dieser Frage herangezogen werden.

Gesichert ist aber, auch bei Acetabularia, daß den Dictyosomen die Kondensation von Polysacchariden aus Nukleotidzuckern und damit notwendigerweise ein Abbau von dabei anfallendem XDP obliegt. Diese Fähigkeit der Dictyosomen

setzt voraus, daß in ihnen auch die dafür notwendigen Enzyme enthalten sind. Diese werden wahrscheinlich über das allgemeine Proteinbiosynthesesystem synthetisiert. Da jedoch bekannt ist, daß die Zisternen frei von Ribosomen sind, muß eine engere Beziehung zwischen Dictyosom und rauhem E.R. bestehen. Es muß weiterhin geschlossen werden, daß die Information für die Dictyosomenfunktionen via E.R. ins Dictyosom gelangt. Hierfür gibt es zahlreiche Hinweise aus elektronenmikroskopischen, autoradiographischen und immunologischen Untersuchungen über die Lokalisation und Translokation von spezifischen Substanzen (z.B. Essner und Novikoff, 1962; Caro und Palade, 1964; Jamieson und Palade, 1967a und b). Gleichzeitig geben diese Befunde auch Hinweise auf eine mögliche Transformation bestimmter E.R.-Teile zu Zisternen der Dictyosomen durch Fusion (s. Schema). Dieser Prozeß signalisiert nicht nur einen Modus der Dictyosomen-Genese, sondern läßt darüber hinaus auch den Weg erkennen, wie funktionelle Substanzen, z.B. spezifische Enzyme, in die Zisternen gelangen können. Diese Annahmen werden gestützt durch Bleiphosphatausfällungen, die gelegentlich im Bereich des E.R. auftreten, woraus geschlossen werden kann, daß auch Nukleosiddiphosphatasen via E.R. ins Dictyosom gelangen. Diese unmittelbare Beziehung manifestiert sich auch in der Lokalisation von einzelnen Nukleosiddiphosphatasen in der Kernhülle von Gameten und Zygoten. Unter diesen Aspekten wäre zu folgern, daß die Bildung der Dictyosomen- bzw. Zisternen-Struktur mit der

Erlangung spezieller Funktionen gekoppelt sind. Dies bedeutet, daß eine experimentelle Beeinflussung von Kernfunktionen oder von Funktionen des Proteinbiosynthesesystems sich sowohl auf die Struktur als auch auf die Funktion des Dictyosoms auswirken sollte (z.B. Flickinger, 1968, 1969).

Es ist aber nicht immer ganz leicht die Struktur eines Dictyosoms mit seiner Funktion in Einklang zu bringen. Unter bestimmten experimentellen Bedingungen wird zwar die XDP-ase-Aktivität beeinträchtigt, das Dictyosom ist dennoch, wenn auch strukturell verändert, als solches deutlich zu identifizieren (s. z.B. Dunkelexperimente). Das heißt, daß die strukturellen Eigenschaften der Zisternen offensichtlich stabiler sind als die funktionellen, die Enzyme sind also labiler oder unterliegen einem stärkeren turn-over. Möglich wäre auch, daß die Einschleusung der Informanden für ein Funktionieren der jeweiligen Zisternen ein anderer Prozeß ist als die Bildung derselben. Das heißt, daß ein Dictyosom unabhängig vom Erwerb einer spezifischen Funktionalität ausgebildet werden könnte, und daß die Transformation in funktionelle Zisternen erst später erfolgt, ein Vorgang, der von verschiedenen Autoren angenommen wird (z.B. Caro, 1961; Whaley, 1966; Morré et al., 1971).

Die grundsätzliche Verknüpfung von Struktur und Funktion bei Dictyosomen könnte u.a. darin begründet sein, daß z.B.

bestimmte Nukleosiddiphosphatasen Bestandteil der Zisternen-Membranen sind. Folgende Befunde geben einen Hinweis auf diese Annahme: Erstens mußten im in vitro-Experiment "membranaktive" Detergentien (Triton X-100) angewendet werden, um die Enzyme in "Lösung" zu bekommen. Zweitens zeigte sich in situ, daß Bleiphosphatausfällungen zunächst an der Zisternenmembran auftreten, erst bei längerer Inkubationszeit werden die Zisternenlumina vollständig ausgefüllt. Dieser Befund kann jedoch nicht als Beweis einer absoluten Membranbindung der untersuchten Enzyme gewertet werden, denn es muß damit gerechnet werden, daß die Enzyme lediglich in einem membranbegrenzten Raum aktiv bleiben, und daß membrannahe Bleiphosphatausfällungen nur anzeigen, daß das durch die Zisternenmembranen diffundierte Substrat gleich nach seinem Durchtritt von den im Lumen der Zisternen enthaltenen aktiven Enzymen umgesetzt wurde.

Aus diesen Erwägungen heraus ist eine definitive Aussage über eine Bindung der Enzyme an die Zisternenmembranen oder darüber, ob sie integrale Bestandteile der Zisternenmembranen selbst sind, z.Zt. noch nicht möglich. Um dies zu entscheiden, wäre es notwendig, Zisternenmembranen zu isolieren und sie dann elektronenmikroskopisch und biochemisch auf Enzymaktivitäten zu prüfen.

4.3. Lokale Verteilung der Dictyosomen und Spezifitäten der Enzyme

Wenn man davon ausgeht, daß Struktur und Funktion der Dictyosomen in enger Beziehung zueinander stehen, sollte auch das zeitliche und örtliche Auftreten von Dictyosomen Hinweise auf den Funktionszustand einer Zelle oder einer Zellregion geben, ein erkennbarer Strukturwandel eines Dictyosoms auf verändertes Stoffwechselgeschehen hinweisen.

Unter der Prämisse, daß Dictyosomen an der Bildung von Zellwandbausteinen beteiligt sind, ist die Vielzahl der Dictyosomen, die sich im zellwandnahen Zytoplasma der apikalen Zellregion finden läßt, Ausdruck einer hohen Zellwandsynthese. Die reduzierte Anzahl der Dictyosomen und die geringere Ausdehnung der Zisternen im Rhizoid weisen auf eine geringe Aktivität des Golgi-Apparates und damit geringe Zellwandbildung in dieser Region hin.

So verfügen z.B. Cysten kurz nach ihrer Bildung und kurz vor dem Übergang zu Gameten über eine größere Anzahl vollaktiver Dictyosomen, im Stadium relativer Ruhe jedoch lassen sich nur vereinzelt Dictyosomen finden, die zudem noch einen gewissen Grad von Desorientierung aufweisen (s. Abb. 14 c).

Die polare Verteilung der Dictyosomen hat eine Parallele in der unterschiedlichen Verteilung der Aktivitäten der in

Rede stehenden Enzyme innerhalb der Zelle. Man findet für die meisten Enzyme einen apiko-basalen Gradienten, wie dies auch für andere mittelbar an der Zellwandsynthese beteiligte Enzyme gezeigt werden konnte (z.B. UDPG-Pyrophosphorylase: Zetsche, 1969).

Die Nukleosiddiphosphatasen sind nicht mit bestimmten Zisternen oder den randständigen Vesikeln assoziiert, sondern offensichtlich unregelmäßig in den verschiedenen Zisternen verteilt. Da selten ein polarer Aufbau der Dictyosomen im üblichen Sinne ("forming face" - "maturing face"; Mollenhauer und Whaley, 1963) festgelegt werden konnte, ist eine nähere Zuordnung der Nukleosiddiphosphatasen nicht möglich.

Für das Funktionssystem "Dictyosom" ist die Frage von besonderer Bedeutung, ob alle Dictyosomen in einer individuellen Zelle homologe Funktionen besitzen. Da die Zellwände nicht nur der verschiedenen Acetabularia-Arten sich in ihrer Zuckerkomposition unterscheiden, sondern auch Unterschiede in der Zusammensetzung der Zellwand innerhalb einer Zelle, z.B. zwischen Stiel, Wirtel, Hut und Cysten, bestehen (Werz, 1963; Zetsche, 1967), war angenommen worden, daß - unter der Prämisse, daß Dictyosomen an der Zellwandbildung beteiligt sind - je nach zu verifizierender Zellstruktur im Verlauf der Ontogenese einer Acetabularia-Zelle Dictyosomen mit entsprechend verschiedenen Funktionen vor-

handen sein müßten, bzw. daß die Dictyosomen einer Zelle eine nach Ort und Zeit voneinander differierende Enzymausstattung haben müßten, um die einzelnen Monosen zu den für die jeweilige Struktur charakteristischen Polysacchariden verknüpfen zu können. Da in diesem Prozeß aus energetischen Gründen nicht die freien Monosen sondern "aktivierte", d.h. mit verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen substituierte Monosen benötigt werden, war angenommen worden, daß die Verteilung von Nukleosiddiphosphatasen in den Dictyosomen Rückschlüsse auf die vornehmlich umgesetzten Nukleotidzucker und damit auf eine funktionelle Zuordnung der Dictyosomen zu bestimmten morphogenetischen Prozessen möglich sein könnte.

Hinweise auf eine Heterofunktionalität der Dictyosomen in einer Zelle bzw. einer Zellregion in verschiedenen Stadien der Zellentwicklung ergaben sich aus folgenden Befunden:

In einer Acetabularia-Zelle sind aktive und inaktive Dictyosomen vorhanden, d.h., - bezogen auf ein- und dasselbe Enzym - liegen in einer Zelle und/oder Zellregion die verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen in verschieden hohen Aktivitäten in den Dictyosomen vor. Es erfolgen qualitative und quantitative Änderungen der XDP-asen in den Dictyosomen im Verlaufe der Ontogenese der Acetabularia-Zellen.

4.4. Determination

Die Entwicklung einer Acetabularia-Zelle beginnt mit der Fusion von zwei haploiden Isogameten zu einer diploiden Zygote. Weder Gameten noch Zygoten in der ersten Phase ihres Wachstums verfügen über eine Zellwand, sie sind nur durch eine Plasmamembran vom umgebenden Milieu getrennt. Allerdings ist diese Plasmamembran durch eine Schleimschicht, die aus pektinähnlichen Substanzen besteht, geschützt. Pektine sind polysaccharidartig aufgebaute Verbindungen, die als Bausteine hauptsächlich D-Galakturonsäure, die mehr oder weniger methyliert ist, und in geringerem Maße L-Arabinose und D-Galaktose enthalten. Diese komplexen Kohlenhydrate werden ebenfalls über Nukleotidzucker gebildet (Ginsburg, 1964; Hassid, 1969). Auch die Primärwand in Pflanzenzellen besteht vornehmlich aus Pektinen und Hemizellulosen. Die Beteiligung von Dictyosomen an der Primärwandbildung ist vielfach belegt worden (z.B. Whaley und Mollenhauer, 1963; Frey-Wyssling et al., 1964; Pickett-Heaps und Northcote, 1966). Diese Tatsachen erklären, daß Gameten von Acetabularia-Zellen über aktive Dictyosomen verfügen und, daß in den Gameten aktive Nukleosiddiphosphatasen in den Dictyosomen vorhanden sind.

Die Dictyosomen der Gameten entsprechen in ihrer Struktur und ihrer Enzymausstattung denen erwachsener Acetabularia-Zellen. Darüber hinaus findet sich hohe ADP-ase-Aktivität im Zellkern und z.T. hohe Aktivitäten verschiedener anderer

Nukleosiddiphosphatasen in der Kernhülle. An dieser Stelle stellt sich die Frage nach der Substratspezifität der Nukleosiddiphosphatasen, wenn auch von einigen Autoren behauptet wird, daß sie substratspezifisch reagierten (Strominger et al., 1954; Strominger, 1955; Plaut, 1955). Sicher wird im Gameten-Kern keine hohe RNS-Synthese stattfinden, sodaß energiereiche Triphosphate, u.a. ATP, nicht verbraucht werden. Wenn auch über den Transport von RNS-Molekülen aus dem Zellkern ins Zytoplasma noch keine völlige Klarheit herrscht (z.B. Stevens und André, 1969), so gibt es doch Hinweise darauf, daß ein Molekültransfer durch Membranen mit Hilfe energiereicher Trägersubstanzen, also ATP oder anderer energiereicher Phosphate, bewerkstelligt wird. Inzwischen ist mit Hilfe histochemischer Methoden gezeigt worden, daß die Reaktionsprodukte einer Reihe von dephosphorylierenden Enzymen an Membranen und speziell auch an der Kernhülle lokalisiert sind (Novikoff et al., 1962; Goldfischer et al., 1964; Leduc et al., 1968). Dies würde bedeuten, daß sich in der Kernhülle Triphosphate befinden, die von den verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen auch aufgespalten werden könnten: $ATP \xrightarrow{E} ADP + P_i$. Das dabei entstehende o-Phosphat würde dann auch mit Pb^{++}-Ionen reagieren.

Die Vermutung, daß bei den Zygoten-Zellen mit einsetzender Zellwandbildung die Aktivitäten der Nukleosiddiphosphatasen erhöht sein würden, hat sich nicht bestätigt. Die Aktivi-

täten sind in den ersten 24 Stunden der Zygotenentwicklung sehr gering. Es läßt sich jedoch von dem geringeren Ordnungszustand der Dictyosomen, der auch im Gefrierätzbild erkennbar wird, zu Beginn der Zellwandbildung auf einen hohen turn-over der Dictyosomen und damit der Enzyme schließen. Für eine hohe Umbaurate spricht auch die reichliche Vesikelbildung. In diesen Vesikeln ist z.T. noch Nukleosiddiphosphatase-Aktivität zu finden, wie auch schon im Bereich des E.R.

4.5. Regulation

Die Frage nach den Regulationsmechanismen der strukturellen und funktionellen Eigenschaften der Dictyosomen, ist letzten Endes die Frage nach der Regulation des Wachstums einer Zelle überhaupt. Wachstum bedingt Zellwandbildung, Zellwandbildung erfolgt nach allem, was wir wissen, via Golgi-Apparat. Seine Ausbildung und die Erlangung seiner Funktionalität ist bedingt durch spezifische Proteinbiosynthesen. Ist diese in irgendeiner Art und Weise gestört, wird dies Auswirkungen auch und gerade auf die Dictyosomen haben. Und zwar wird aufgrund des eingangs Gesagten die Struktur und die Funktion immer gemeinsam betroffen sein, sodaß es schwierig sein wird zu entscheiden, welche Änderung ursächlich gewesen ist.

So ist bekannt, daß kernlose Acetabularia-Zellen noch zu Stiel- und Hutbildung sowie zur Proteinnettosynthese

befähigt sind (Lit. in Hämmerling, 1963). Dementsprechend sind auch in kernlosen Acetabularia-Zellen verschiedene Enzyme gefunden worden, die mit der Zellwandbildung in Zusammenhang stehen. Für diese Enzyme wird ein Aktivitätsanstieg registriert, wenn die Zelle zur Hutbildung übergeht (Phosphatasen: Spencer und Harris, 1964; Triplett et al., 1965; UDPG-Pyrophosphorylase: Zetsche, 1968, 1969; UDPG-Epimerase: Zetsche, 1966a).

Wenn in den vorliegenden Versuchen die Enzymaktivität im kernlosen System nachläßt, stellt sich die Frage, ob die Enzymneubildung zuerst sistiert wird oder ob das gebildete Enzym wegen fehlender oder destruktierter Dictyosomen nicht mehr vollständig eingebaut wird; denn die Proteinsynthese geht noch weiter, solange das Proteinbiosynthese-System vollständig ist.

Mehr Aufschluß über die Regulationsmechanismen gibt auch die Behandlung mit Actinomycin nicht. Es ist offensichtlich genügend Information gespeichert, um die Morphogenese zu realisieren, sodaß die Wirkung von Actinomycin nur gering scheint. Die Aktivität von Enzymen wird nur wenig beeinflußt (UDPG-Pyrophosphorylase: Zetsche, 1968). Die Behandlung mit Actinomycin scheint einen größeren Einfluß auf die Neubildung und/oder den turn-over von zytoplasmatischen Membranen zu haben, als auf die Regulation von Enzymaktivitäten.

Bei der Betrachtung der Wirkungsweise von Actinomycin und auch Puromycin sollte nicht vernachlässigt werden, daß diese Antibiotika im in vivo System toxisch wirken können und die Ergebnisse auf sekundären Wirkungen beruhen. Wenn man einmal von diesem Phänomen absieht und nur die Wirkung des Puromycins im Proteinbiosynthesesystem betrachtet, heißt das für Acetabularia, daß die Proteinsynthese und die Morphogenese vollständig, wenn auch reversibel, durch Puromycin gehemmt wird. Dies findet ihren Ausdruck in der mangelnden Aktivität der Nukleosiddiphosphatasen wie auch anderer Enzyme (UDPG-Pyrophosphorylase: Zetsche, 1968; UDPG-Epimerase: Zetsche, 1966a). Der Kern fährt zwar während der Puromycin-Hemmung fort RNS zu bilden, die an das Zytoplasma abgegeben und dort gespeichert wird (Zetsche, 1966b). Die Ausbildung von funktionsfähigen Proteinen unterbleibt jedoch, wenn auch noch Polypeptidketten unterschiedlicher Länge gebildet werden können. Diese unvollständigen Peptidketten können vielleicht noch teilweise aktive Zentren ausbilden. Da aber ein normaler turn-over der Struktur nicht mehr gegeben ist, unterbleibt auch die Inkorporation in bestehende Strukturen. Denn die Struktur der Dictyosomen und ihre Neubildung werden in Puromycin-behandelten Zellen sehr verändert (Werz, 1964b).

Bei der Anwendung von Antibiotika sollte darauf hingewiesen werden, daß ihre Wirkung im in vitro-System festgestellt worden ist, im in vivo-System ihre Anwendung aber eine sehr

viel weitergehende Beeinflussung bedeuten kann. In einem so komplexen System wie der Zelle wird bei Ausfall eines Regelgliedes in der Folge eine Reihe von Funktionen und ihre Koordination gestört sein, wenn nicht sogar das ganze System zusammenbricht. So wird es immer sehr schwer sein zu entscheiden, was die Veränderung primär bedingt hat.

Besonders komplex ist die Wirkung von Dunkelheit auf die Zellen. Acetabularia-Zellen stellen bei Verdunklung ihr Wachstum fast augenblicklich ein und die Zelldifferenzierung ist sistiert (z.B. Stich, 1951). Gleichzeitig nimmt in verdunkelten Zellen der intranukleäre Ribonukleoproteidgehalt ab, d.h., die Nukleolussubstanz wird reduziert (Stich, 1951; Werz, 1962). Die Sistierung des Wachstums kann nicht allein damit erklärt werden, daß die Photosynthese eingestellt wird; denn Stärke wäre genug vorhanden, um z.B. daraus Zellwandbausteine zu synthetisieren. In den Chloroplasten, die sich nicht mehr teilen, findet sogar noch ein Abbau von Stärke und zeitlich begrenzt ein Aufbau von "Thylakoiden" statt. Die Dictyosomen erhalten offensichtlich jedoch keine "aktivierten Zucker" von den Plastiden. Leider ist bei Acetabularia über den Ablauf der Atmungsprozesse unter verschiedenen experimentellen Bedingungen zu wenig bekannt, um Aussagen über die jeweilige Energiebilanz zu machen. Würde die Zelle z.B. bei Verdunkelung die Atmungskette nur auf Glykolyse umschalten, so wäre die Ausbeute an ATP sehr gering, vielleicht zu gering, um Monosen in genü-

gender Quantität zu "aktivieren". Das hieße, daß auch keine Nukleotidzucker in die Dictyosomen gelangen und, da keine Nukleosiddiphosphate anfallen, somit die Bildung oder Aktivierung von Nukleosiddiphosphatasen sistiert würde. Die Befunde aus den Dunkelversuchen - Abnahme der Enzymaktivitäten - weisen in diese Richtung.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Frage nach der Regulation der Dictyosomenstruktur und -funktion nicht eindeutig zu beantworten ist. Es konnte zwar gezeigt werden, daß die Nukleosiddiphosphatase-Aktivitäten in den Dictyosomen bis zu einem gewissen Grade kernabhängig ist und daß sie somit auf dem Level der Transkription und Translation gehemmt werden kann. Solange jedoch noch Information und ein funktionsfähiges Proteinbiosynthesesystem vorhanden ist, und von Acetabularia ist bekannt, daß sie über langlebigen messenger verfügt (z.B. Hämmerling, 1963), werden auch noch Enzyme gebildet. Im ganzen gesehen ist die Regulation der Funktion des Dictyosoms, wie wohl aller anderen Zellorganellen auch, und seiner mit ihm assoziierten Enzyme ein sehr komplexer Prozeß. Der Ausfall eines Regulativs wird in der Regel den Zusammenbruch des ganzen Systems nach sich ziehen. Ist der Regulationsmechanismus an mehreren Stellen gleichzeitig gestört, wie dies z.B. in Dunkelzellen der Fall ist, wird dies schon nach sehr kurzer Zeit fatale Folgen haben (Sistierung der Morphogenese, Cytolyse).

4.6. Offene Fragen

Die hier niedergelegten Ergebnisse können nur einige Aspekte der Funktion der Dictyosomen in Korrelation mit der Struktur und ihrer Stellung im Zellgeschehen darstellen. Darüberhinaus bleiben noch viele Fragen offen.

Die Basis für eine weitere experimentelle Bearbeitung der mit dem Funktionieren der Dictyosomen zusammenhängenden Fragen, besonders bei Acetabularia-Zellen, ist die Isolierung der Dictyosomen selbst und der Dictyosomen-Vesikel. Darauf aufbauend wäre es möglich, um nur wenige Beispiele anzuführen, die dictyosomen-assoziierten Nukleosiddiphosphatasen biochemisch näher zu charakterisieren, sie auf ihren Isozymcharakter hin zu prüfen und Spezifitäten zu erkennen. Außerdem wäre es möglich, zu prüfen, ob Dictyosomen selbst in der Lage sind, Nukleotidzucker zu synthetisieren und weiterhin, ob in Dictyosomen der Acetabularia-Zellen, wie bei tierischen Zellen, eine Kondensation von Proteinen (z.B. von zellwandassoziierten Proteinen) und eine Verknüpfung von Polysacchariden und Proteinen erfolgen kann. Es wäre dann auch möglich Interrelationen der Dictyosomen mit anderen Zellorganellen, z.B. mit Chloroplasten oder Mitochondrien, erkennen zu können. Leider ist jedoch bei Acetabularia trotz vieler Versuche - im Gegensatz zu anderen tierischen und pflanzlichen Objekten (Schneider und Kuff, 1954; Morré und Mollenhauer, 1964) - die Isolierung noch nicht gelungen.

Andererseits erscheint es von besonderer Wichtigkeit, die Frage, nach dem Mechanismus des gerichteten Transports von Golgi-Vesikeln zur Zytoplasmamembran, ihrer Fusion mit dieser Zellstruktur und den Einbau von "Golgi-Produkten" in die wachsende oder nicht wachsende Zellwand zu klären. Untersuchungen in dieser Richtung von Matile (1973) weisen darauf hin, daß dabei spezielle lytische Prozesse eine Rolle spielen, d.h., daß mit Hilfe spezieller extraplasmatischer Hydrolasen ein Einbau ermöglicht wird.

Einige in situ-Versuche, die unternommen worden sind, um einen Teil dieser Fragen beantworten zu können, hatten leider keinen Erfolg. Es war versucht worden, mit Hilfe Tritium-markierter Zucker (Mannose, Galaktose, Glucose), die im Kulturmedium der Alge gelöst worden waren, und entsprechender Chase-Experimente die Aufnahme und Verarbeitung dieser Zucker zu verfolgen. Anscheinend sind die angebotenen Zucker gar nicht in die Zelle aufgenommen worden oder aber von den Bakterien, die der Zellwand außen anhaften, verarbeitet worden. Markierung in Bakterien gaben Hinweise auf diese Möglichkeit. Trotz dieser Schwierigkeiten werden Autoradiographie und Immunologie die Methoden sein, mit der diese und andere Fragen experimentell angegangen werden müssen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird über Versuche zur Aufklärung von Interrelationen zwischen Struktur und Funktion der Dictyosomen von zwei Acetabularia-Arten (Acetabularia mediterranea, Polyphysa cliftonii) mit Hilfe verschiedener elektronenmikroskopischer Techniken und biochemischer Methoden berichtet.

Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1) Mit Hilfe der Gefrierätztechnik wurde die in vivo-Struktur von Dictyosomen in den Zellen unter verschiedenen experimentellen Bedingungen geprüft. Es wurde festgestellt,
   - daß die Struktur der Dictyosomen in Normalzellen mit der Struktur der Dictyosomen aus chemisch fixierten Zellen übereinstimmt,
   - daß in der Spitzenregion mehr Dictyosomen und Golgi-Vesikel vorhanden sind als im Rhizoid,
   - daß die Innenseite der Zisternenmembranen einen unterschiedlichen Partikelbesatz aufweisen,
   - daß in kernlosen Zellen "normale" Dictyosomen auftreten, allerdings weniger als in Normalzellen,
   - daß in Puromycin behandelten Zellen die Dictyosomen destrukturiert erscheinen,
   - daß in Dunkelzellen die Zahl der Dictyosomen sehr viel geringer, der Durchmesser der Zisternen der vorhandenen Dictyosomen kleiner ist als in Normal-

zellen, und weniger randständige Golgi-Vesikel auftreten,

- daß Cysten 4 Wochen nach ihrer Bildung über eine große Zahl an Dictyosomen verfügen, später ihre Größe und Zahl reduziert wird,
- daß Gameten über "normale" Dictyosomen verfügen,
- daß in Zygotenzellen die Zahl der Dictyosomen nicht erhöht ist gegenüber Gametenzellen, die Zelle aber angefüllt ist mit vesikulären Elementen unterschiedlicher Größe.

2) Mit ultrahistochemischen Methoden wurden verschiedene Nukleosiddiphosphatasen (ADP-ase, CDP-ase, GDP-ase, IDP-ase und UDP-ase) und Thiaminpyrophosphatase in den Dictyosomen der Zellen beider Acetabularia-Arten ebensowie in ihren Gameten und Zygoten lokalisiert und das Verhalten der Enzyme unter verschiedenen experimentellen Bedingungen untersucht. Im einzelnen wurde festgestellt,

- daß in den Dictyosomen einer Zelle die einzelnen Nukleosiddiphosphatasen in verschieden hohen Aktivitäten vorliegen,
- daß die Spitzenregion höhere Aktivität aufweist als die Rhizoide,
- daß immer wieder neben Dictyosomen in einer Zelle mit hoher Aktivität auch welche mit geringer oder sogar ohne Aktivität vorkommen,
- daß in kernlosen Zellen die Zahl der Dictyosomen und

die Aktivität der Nukleosiddiphosphatasen im allgemeinen abnehmen,

- daß in Actinomycin-D behandelten Zellen die Zahl der Dictyosomen abnimmt, die Dictyosomen selbst strukturelle Änderungen erfahren und die Aktivität der Nukleosiddiphosphatasen abnimmt,
- daß in Puromycin behandelten Zellen die Zahl der Dictyosomen stark reduziert ist, bei den Verbleibenden die Struktur stark degeneriert ist und die Enzymaktivitäten auf ein Minimum reduziert sind,
- daß in Dunkelzellen weniger Dictyosomen vorhanden und die Enzymaktivitäten geringer als in Normalzellen sind,
- daß in den Dictyosomen von Gametenzellen die verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen lokalisiert sind, einzelne auch in der Kernhülle, die Menge an aktiven Enzym entspricht jener in Dictyosomen von Normalzellen,
- daß sich in den Dictyosomen von Zygotenzellen nur geringe Aktivitäten von Nukleosiddiphosphatasen finden lassen, die auch bei einsetzender Zellwandbildung nicht ansteigt.

3) Versuche, die Enzyme in vitro biochemisch zu charakterisieren, ihre Aktivitäten zu quantifizieren und den Einfluß der experimentellen Beeinflussungen messend zu bestimmen brachten im allgemeinen mit den in situ-Verhältnissen korrelierbare Ergebnisse.

Auf der Basis dieser Ergebnisse wird angenommen,

- daß Struktur und Funktion korreliert sind,
- daß Dictyosomen an der Zellwandbildung beteiligt sind,
- daß Struktur und Gesamtzahl der Dictyosomen u.a. abhängig ist vom physiologischen Zustand der Zelle, von der Aktivität des Stoffwechsels dieser Zelle, und von ihrer Fähigkeit, Proteinbiosynthesen durchzuführen.

6. LITERATUR

Afzelius, B. A.: Electron microscopy of Golgi-elements in sea urchin eggs. Exptl. Cell Res. 11: 67-85 (1956)

Bainton, D. F. and M. G. Farquhar: Origin of granules in polymorphonuclear leukocytes. Two types derived from opposite faces of the Golgi complex in developing granulocytes. J. Cell Biol. 28: 277-301 (1966)

Beams, H. W. and R. G. Kessel: The Golgi apparatus: structure and function. Int. Rev. Cytol. 23: 209-276 (1968)

Berlin, J. D.: The localization of acid mucopolysaccharides in the Golgi complex of intestinal Goblet cells. J. Cell Biol. 32: 760-766 (1967)

Brachet, J., H. Denis and F. de Vitry: The effects of actinomycin D and puromycin on morphogenesis in amphibian eggs and Acetabularia mediterranea. Developmental Biology 9: 398-434 (1964)

Branton, D. and H. Moor: Fine structure in freeze-etched Allium cepa L. root tips. J. Ultrastruct. Res. 11: 401-411 (1964)

Caputto, R., L. F. Leloir, C. E. Gardini and A. C. Paladini: Isolation of the coenzyme of the galaktose phosphate-glucose phosphate transformation. J. Biol. Chem. 184: 333-350 (1950)

Caro, L. G.: Electron microscopic radioautography of thin sections: The Golgi zone as a site of protein concentration in pancreatic acinar cells. J. Cytol. 10: 37-45 (1961)

Caro, L. G. and G. E. Palade: Protein synthesis, storage, and discharge in the pancreatic exocrine cell. An autoradiography study. J. Cell Biol. 20: 473-495 (1964)

Crawley, J. C. W.: Cytoplasmic fine structure in Acetabularia. Exptl. Cell Res. 35: 497-506 (1964)

Dauwalder, M., J. E. Kephart and W. G. Whaley: Phosphatases and the Golgi apparatus in differentiating cells. J. Cell Biol. 31: 25A-26A (1966)

de Vitry, F.: Étude autoradiographique de l'incorporation d'actinomycine ^{14}C chez Acetabularia mediterranea. C. R. Acad. Sc. Paris 258: 4829-4831 (1964)

Drawert, H. und M. Mix: Zur Frage von Struktur und Funktion des "Golgi-Apparates" in Pflanzenzellen. Sitz.-Ber. Ges. Beförd. ges. Naturwissensch. Marburg 83/84: 361-382 (1961/62)

Essner, E. and A. B. Novikoff: Cytological studies in the functional hepatomas. Interrelations of endoplasmic reticulum, Golgi apparatus, and lysosomes. J. Cell Biol. 15: 289-312 (1962)

Favard, P.: The Golgi apparatus. In: Handbook of Molecular Cytology (Ed.: A. Lima-De-Faria), North-Holland Publ. Co., Amsterdam-London, 1130-1155 (1969)

Flickinger, Ch. J.: The effects of enucleation on the cytoplasmic membranes of Amoeba proteus. J. Cell Biol. 37: 300-315 (1968)

Flickinger, Ch. J.: The development of Golgi complexes and their dependence upon the nucleus in Amoeba. J. Cell Biol. 43: 250-262 (1969)

Flickinger, Ch. J.: Cellular membranes of Amoeba. In: The Biology of Amoeba (Ed.: K. W. Jeon), Academic Press, New York and London (1973)

Frey-Wyssling, A., J. F. Lopez-Saez and K. Mühlethaler: Formation and development of the cell plate. J. Ultrastruct. Res. 10: 422-432 (1964)

Geyer, G.: Ultrahistochemie. Histochemische Arbeitsvorschriften für die Elektronenmikroskopie. 2. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1973)

Ginsburg, V.: Sugar nucleotides and the synthetis of carbohydrates. In: Advances in Enzymology (Ed.: F. F. Nord), Vol. 26, Interscience Publ., New York, 35-88 (1964)

Glauert, A. M. and R. H. Glauert: Araldite as an embedding medium for electron microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. 4: 191 (1958)

Goldfischer, S., E. Essner and A. B. Novikoff: The lokalization of phosphatase aktivities at the level of ultrastructure. J. Histochem. Cytochem. 12: 72-95 (1964)

Goldfischer, S., E. Essner and B. Schiller: Nucleoside diphosphatase and thiamine pyrophosphatase activities in the endoplasmic reticulum and Golgi-apparatus. J. Histochem. Cytochem. 19: 349-360 (1971)

Golgi, C.: Structures des cellules nerveuses. Arch. Ital. Biol. 30: 60 (1898)

Graßl, M.: Cytidin-5'-diphosphat, Guanosin-5'-diphosphat und Uridin-5'-diphosphat. In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. II (Hrsg.: H. U. Bergmeyer), Verlag Chemie, Weinheim, 2071-2074 (1970)

Hämmerling, J.: Entwicklung und Regeneration bei Acetabularia mediterranea (Ein Beitrag zur Physiologie des Zellkerns). Z. indukt. Abstammungs- u. Vererbungsl. 62: 92-93 (1931)

Hämmerling, J.: Regenerationsversuche an kernhaltigen und kernlosen Zellteilen von Acetabularia Wettsteinii. Biol. Zentralblatt 54: 650-665 (1934)

Hämmerling, J.: Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. f. Protistenkunde 97: 7-56 (1944)

Hämmerling, J.: Nucleo-cytoplasmic interactions in Acetabularia and other cells. Ann. Rev. Plant Physiol. 14: 65-92 (1963)

Hassid, W. Z.: Biosynthesis of oligosaccharides and polysaccharides in plants. Mechanisms of enzymic synthesis of complex plant carbohydrates are reviewed. Science 165: 137-144 (1969)

Heitz, E.: Weitere Belege für das gesetzmäßige Vorkommen plasmatischer Lamellensysteme bei Pflanzen und ihre identische Struktur mit dem Golgi-Apparat bei Tieren. Z. Naturforsch. 136: 663-667 (1958)

Hirsch, G. C.: Der Arbeitszyklus im Pancreas und die Entstehung der Eiweiße. Naturwiss. 45: 349-358 (1958)

Hirsch, G. C.: Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-Körper. Naturwiss. 2: 25-35 (1960)

Jamieson, J. D. and G. E. Palade: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex. J. Cell Biol. 34: 577-596 (1967a)

Jamieson, J. D. and G. E. Palade: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport of condensing vacuoles and zymogen granules. J. Cell. Biol. 34: 597-615 (1967b)

Lang, N. J.: Electron microscopy of the Volvocaceae and Astrephomenaceae. Am. J. of Botany 50: 280-300 (1963)

Leduc, E. H., S. Avremeas and M. Bouteille: Ultrastructural localization of antibody in differentiating plasma cells. J. Exptl. Med. 127: 109 (1968)

Leloir, L. F.: The enzymatic transformation of uridine diphosphate glucose into galaktose derivative. Arch. Biochem. 33: 186-190 (1951)

Matile, P.: Regulation und Bedeutung der Sekretion von Hydrolasen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 86: 241-255 (1973)

Miwa, T., Y. Iriki and T. Suzuki: Mannan and xylan as essential cell wall constituents of some siphonous green algae. Coll. Int. du CNRS, Paris, Nr. 103, 135-144 (1961)

Mollenhauer, H. H. and D. J. Morré: Golgi apparatus and plant secretion. Ann. Rev. Plant Physiol. 17: 27-46 (1966)

Mollenhauer, H. H. and W. G. Whaley: An observation on the functioning of the Golgi-apparatus. J. Cell Biol. 17: 222-225 (1963)

Mollenhauer, H. H., W. G. Whaley and J. H. Leech: A function of the Golgi apparatus in outer rootcap cells. J. Ultrastruct. Res. 5: 193-200 (1961)

Moor, H. and K. Mühlethaler: Fine structure in frozen-etched yeast cells. J. Cell Biol. 17: 609-628 (1963)

Moore, R. T. and J. H. McAlear: Fine structure of mucola. 4. The occurrence of the dictyosome in the fungus Neobulgaria pura (Fr.) Petrak. J. Cell Biol. 16: 131-141 (1963)

Morré, D. J., D. D. Jones and H. H. Mollenhauer: Golgi apparatus mediated polysaccharid secretion by outer root cap cells of Zea mays. I. Kinetics and secretory pathway. Planta 74: 286-301 (1967)

Morré, D. J. und H. H. Mollenhauer: Isolation of the Golgi apparatus from plant cells. J. Cell Biol. 23: 295 (1964)

Morré, D. J., H. H. Mollenhauer and C. E. Bracker: Origin and continuity of Golgi apparatus. In: Origin and Continuity of Cell Organelles (Ed.: J. Reinert and H. Ursprung), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 82-126 (1971)

Neutra, M. and C. P. Leblond: Synthesis of the carbohydrate of mucus in the Golgi complex as shown by electron microscope radioautography of goblet cells from rats injected with glucose-H^3. J. Cell Biol. 30: 119-136 (1966a)

Neutra, M. and C. P. Leblond: Radioautographic comparison of the uptake of galaktose-H^3 in the Golgi region of various cells secreting glycoproteins or mucopoly-saccharides. J. Cell Biol. 30: 137-150 (1966b)

Northcote, D. H. and J. D. Pickett-Heaps: A function of the Golgi-apparatus in polysaccharide synthesis and transport in the rootcap cells of wheat. Biochem. J. 98: 159-167 (1966)

Novikoff, A. B., E. Essner, S. Goldfischer and M. Heus: Nucleosidediphosphatase activities of cytomembranes. In: The Interpretation of Ultrastructure (Ed.: R. J. C. Harris), Academic Press Inc., New York, p. 149 (1962)

Novikoff, A. B. and S. Goldfischer: Nucleosidediphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. Proc. Nat. Acad. Sciences (Wash.) 47: 802-810 (1961)

Palade, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. Exptl. Med. 95: 285 (1952)

Perner, E. S.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytomorphologie des sogenannten "Golgisystems" in Wurzelzellen verschiedener Angiospermen. Protoplasma 49: 407-446 (1958)

Pickett-Heaps, J. D.: The use of radioautography for investigating wall secretion in plant cells. Protoplasma 64: 49-66 (1967)

Pickett-Heaps, J. D. and D. H. Northcote: Relationship of cellular organelles to the formation and development of the plant cell wall. J. Exp. Bot. 17: 20-26 (1966)

Plaut, G. W. E.: An Inosinediphosphatase from mammalian liver. J. Biol. Chem. 217: 235-245 (1955)

Poux, N.: Localization de la phosphatase acide dans les cellules méristématiques de blé (Triticum vulgare Vill.). J. Microscopie 2: 485-489 (1963)

Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208-213 (1963)

Schneider, L. and E. L. Kuff: On the isolation and some biochemical properties of the Golgi substance. Am. J. Anat. 94: 209 (1954)

Schneider, L. and K. E. Wohlfarth-Bottermann: Protistenstudien IX. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Amoeben unter besonderer Berücksichtigung der Feinstruktur des Cytoplasmas. Protoplasma 51: 377-389 (1959)

Schnepf, E.: Quantitative Zusammenhänge zwischen Sekretion des Fangschleimes und den Golgi-Strukturen bei Drosophyllum lusitanicum. Z. Naturforsch. 16b: 605-609 (1961)

Schnepf, E.: Die Morphologie der Sekretion in pflanzlichen Drüsen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 78: 478-483 (1965)

Schnepf, E.: Sekretion und Exkretion bei Pflanzen. Protoplasmatologia VIII/8. Springer, Wien, New York (1969)

Schulze, K. L.: Cytologische Untersuchungen an Acetabularia mediterranea und Acetabularia wettsteinii. Arch. Protistenk. 92: 179-223 (1939)

Schweiger, H. G. und E. Schweiger: Zur Wirkung von Actinomycin C auf Acetabularia. Naturwiss. 50: 620 (1963)

Sievers, A.: Beteiligung des Golgi-Apparates bei der Bildung der Zellwand von Wurzelhaaren. Protoplasma 56: 183-192 (1963)

Sievers, A.: Funktion des Golgi-Apparates in pflanzlichen und tierischen Zellen. In: Sekretion und Exkretion. 2. wiss. Konf. Ges. Deutscher Naturforscher und Ärzte, 1964 (Hrsg.: K. E. Wohlfarth-Bottermann), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 89-118 (1965)

Sommer, J. R. and J. J. Blum: Cytochemical localization of acid phosphatases in Euglena gracilis. J. Cell Biol. 24: 235-251 (1965)

Spencer, T. and H. Harris: Regulation of enzyme synthesis in an enucleate cell. Biochem. J. 91: 282-286 (1964)

Stevens, B. J. and J. André: The nuclear envelope. In: Handbook of Molecular Cytology (Ed.: A. Lima-De-Faria), North-Holland Publ. Co., Amsterdam, London, 837-871 (1969)

Stich, H.: Experimentelle karyologische und cytochemische Untersuchungen an Acetabularia mediterranea. Z. Naturforschg. 6b: 319-326 (1951)

Streitbürger, E.: Lytische Prozesse - integrierende Faktoren morphogenetischer Systeme bei Pflanzenzellen. Diplomarbeit, Fachbereich 23 (Biologie) der Freien Universität Berlin (September 1972)

Strominger, J. L.: Enzymic synthesis of guanosine and cytidine triphosphates: A note on the nucleotide specificity of the pyruvate phosphokinase reaction. Biophys. Biochem. Acta 16: 616-618 (1955)

Strominger, J. L., L. A. Heppel and E. S. Maxwell: A new mechanism for dephosphorylation of nucleoside di- and triphosphates. I. Transphorphorylation between nucleoside monophosphates and nucleoside triphosphates. Arch. Biochem. Biophys. 52: 488-491 (1954)

Strotmann, H. and S. Berger: Adenine nucleotide translocation across the membrane of isolated Acetabularia chloroplast. Biochem. Biophys. Res. Comm. 135: 20-26 (1969)

Su, J. Ch. and W. Z. Hassid: Carbohydrates and nucleotides in the red alga Porphyra perforata. II. Separation and identification of nucleotides. Biochemistry 1: 474-480 (1962)

Tourte, M.: Ultrastructural investigations on anucleate cells in Micrasterias fimbrata. Comparison to three-lobed actinomycin D treated cells. In: Biology and Radiobiology of Anucleate Systems. Vol. 2: Plant Cells (Ed.: S. Bonotto, R. Goutier, R. J. Kirchmann and J. R. Maisin), Academic Press, New York and London, 193-223 (1972)

Triplett, E. L., A. Steens-Livens and E. Baltus: Rates of synthesis of acid phosphatasis in nucleate and enucleate Acetabularia fragments. Exptl. Cell Res. 38: 366-378 (1965)

Tsai, C. M. and W. Z. Hassid: Substrate activation of ß-(1⟶3) glucan synthetase and its effect on the structure of ß-glucan obtained from UDP-D-glucose and particulate enzyme of oat coleoptiles. Plant Physiol. 51: 998-1001 (1973)

Wachstein, M. and E. Meisel: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile analiculi. Amer. J. clin. Path. 27: 13 (1957)

Werz, G.: Über die Wirkung von Dunkelheit auf den Proteingehalt kernhaltiger und kernloser Zellteile von Acetabularia mediterranea. Z. Naturforschg. 15b: 85-90 (1960)

Werz, G.: Zur Frage der Elimination von Ribosenucleinsäure und Protein aus dem Zellkern von Acetabularia mediterranea. Planta 57: 636-655 (1962)

Werz, G.: Vergleichende Zellmembrananalysen bei verschiedenen Dasycladaceen. Planta (Berl.) 60: 322-330 (1963)

Werz, G.: Unterschiede in der Zusammensetzung von Mannanen aus verschiedenen Dasycladaçeen-Arten. Planta (Berl.) 60: 540-542 (1964a)

Werz, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Genese des Golgi-Apparates (Dictyosomen) und ihre Kernabhängigkeit bei Acetabularia. Planta (Berl.) 63: 366-381 (1964b)

Werz, G.: Morphologische Veränderungen in Chloroplasten und Mitochondrien von verdunkelten Acetabularia-Zellen. Planta 68: 256-268 (1966)

Werz, G.: Plasmatische Formbildung als Voraussetzung für die Zellwandbildung bei der Morphogenese von Acetabularia. Protoplasma 65: 81-96 (1968a)

Werz, G.: Differenzierung und Zellwandbildung bei isoliertem Cytoplasma aus Acetabularia. Protoplasma 65: 349-357 (1968b)

Werz, G.: Cytoplasmic control of cell wall formation in Acetabularia. In: Current Topics in Microbiology and Immunology, Vol. 51, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 27-62 (1970)

Werz, G.: Fine-structural aspects of morphogenesis in Acetabularia. Int. Rev. Cytology 38: 319-367 (1974)

Werz, G. und G. Kellner: Die Struktur des Golgi-Apparates bei gefriergeätzten Dunaliella-Zellen. Protoplasma 69: 351-364 (1970)

Wetzel, M. G., B. K. Wetzel and S. Spicer: Ultrastructural localization of acid mucosubstances in the mouse colon with iron-containing stains. J. Cell Biol. 30: 299-315 (1966)

Whaley, W. G.: Proposals concerning replication of the Golgi-Apparatus. In: Probleme der biologischen Reduplikation. 3. wiss. Konf. Ges. Deutscher Naturforscher und Ärzte, 1965, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 340-370 (1966)

Whaley, W. G., J. E. Kephart and H. H. Mollenhauer: The dynamics of cytoplasmic membranes during development. In: Cellular Membranes in Development (Ed.: M. Locke), Academic Press, New York-London, 135-173 (1964)

Whaley, W. G. and H. H. Mollenhauer: The Golgi apparatus and cell plate formation - a postulate. J. Cell Biol. 17: 216-221 (1963)

Wise, G. E. and Ch. F. Flickinger: Patterns of cytochemical staining in Golgi apparatus of Amoeba following enucleation. Exptl. Cell Res. 67: 323-328 (1971)

Zaar, K. und E. Schnepf: Membranfluß und Nukleosiddiphosphatase-Reaktion in Wurzelhaaren von Lipidium sativum. Planta (Berl.) 88: 224-232 (1969)

Zerban, H., M. Wehner und G. Werz: Über die Feinstruktur des Zellkerns von Acetabularia nach Gefrierätzung. Planta (Berl.) 114: 239-250 (1973)

Zetsche, K.: Der Einfluß von Actinomycin D auf die Abgabe morphogenetischer Substanzen aus dem Zellkern von Acetabularia mediterranea. Naturwiss. 51: 18-19 (1964a)

Zetsche, K.: Hemmung der Synthese morphogenetischer Substanzen im Zellkern von Acetabularia mediterranea durch Actinomycin D. Z. Naturforsch. 19b: 751-759 (1964b)

Zetsche, K.: Nachweis von Guanosindiphosphat-Mannose- und Uridindiphosphat-Glucose Pyrophosphorylase in Acetabularia. Planta (Berl.) 64: 129-137 (1965a)

Zetsche, K.: Anreicherung von morphogenetischen Substanzen in Lichtpflanzen von Acetabularia mediterranea unter dem Einfluß von Puromycin. Planta 64: 119-128 (1965b)

Zetsche, K.: Regulation der UDP Glucose 4-Epimerase Synthese in kernhaltigen und kernlosen Acetabularia. Biochim. Biophys. Acta 124: 332-338 (1966a)

Zetsche, K.: Anreicherung von Proteinsynthese induzierenden Substanzen in Acetabularia mediterranea unter dem Einfluß von Puromycin. Z. Naturforsch. 21b: 88-90 (1966b)

Zetsche, K.: Nachweis von Enzymen des Galactosestoffwechsels in der Grünalge Acetabularia mediterranea. Planta (Berl.) 68: 240-246 (1966c)

Zetsche, K.: Unterschiedliche Zusammensetzung von Stiel- und Hutzellwand bei Acetabularia mediterranea. Planta (Berl.) 76: 326-334 (1967)

Zetsche, K.: Regulation der UDPG-Pyrophosphorylase-Aktivität in Acetabularia. I. Morphogenese und UDPG-Pyrophosphorylase-Synthese in kernhaltigen und kernlosen Zellen. Z. Naturforsch. 23b: 369-376 (1968)

Zetsche, K.: Regulation der UDPG-Pyrophosphorylaseaktivität in Acetabularia. II. Unterschiedliche Synthese des Enzyms in verschiedenen Zellregionen. Planta (Berl.) 89: 244-253 (1969)

7. VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

ADP = Adenosindiphosphat

CDP = Cytidindiphosphat

d = Tage

D = Dunkel

GDP = Guanosindiphosphat

h = Stunden

IDP = Inosindiphosphat

K = Kontrolle

KH = kernhaltig

KL = kernlos

L = Licht

LDH = Lactatdehydrogenase

NAD^+ = Nicotin-adenin-dinucleotid

NADH = reduziertes Nicotin-adenin-dinucleotid

PEP = Phosphorenolpyruvat

P_i = anorganisches Phosphat

PK = Pyruvat-Kinase

Rh = Rhizoid

TPP = Thiaminpyrophosphat

TRA-Puffer = Triäthanolamin-Puffer

UDP = Uridindiphosphat

V = Vorderstück

XDP = Nukleosiddiphosphat

XDP-Z = Nukleosiddiphosphat-Zucker

XMP = Nukleosidmonophosphat

XTP = Nukleosidtriphosphat

8. ANHANG

8.1. Schema

Ein Modell der Dictyosomenentwicklung.

a) Vesikelabschnürung vom Endoplasmatischen Retikulum.

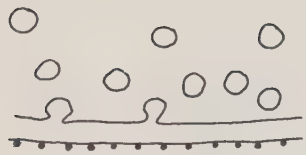
b) Fusion der Vesikel zu Golgi-Zisternen.

c) Voll funktionsfähiges Dictyosom: Abschnürung von Golgi-Vesikeln, kontinuierliche Nachbildung von Golgi-Zisternen durch E.R.-Vesikel, Möglichkeit der nachträglichen Inkorporation von E.R.-Vesikeln an ausgebildete Zisternen mit bestimmten Informationsgehalt.

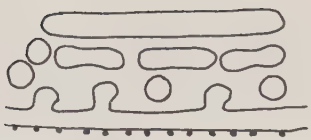
d) Fehlende E.R.-Vesikelbildung, keine Neubildung von Golgi-Zisternen, aber noch Abschnürung von Golgi-Vesikeln.

e) Weiterer "Verbrauch" von Golgi-Zisternen.

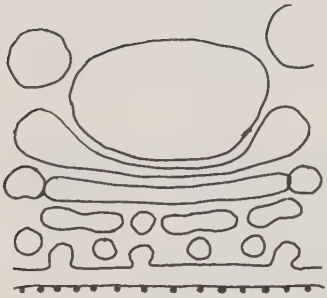
f) Endphase vollständiger Auflösung des Dictyosoms in Golgi-Vesikel.



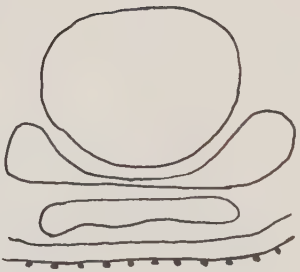
a



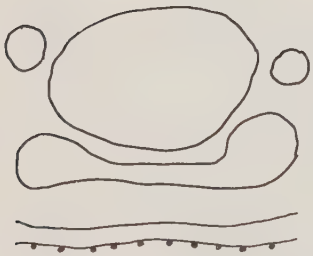
b



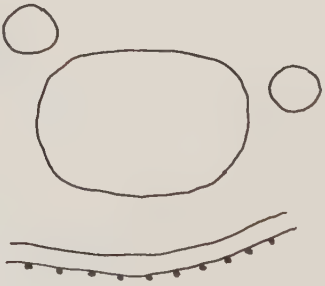
c



d



e



f

8.2. Abbildungen

Symbole:

A	Augenfleck
Ch	Chloroplast
D	Dictyosom
G	Geißel
GV	Golgi-Vesikel
M	Mitochondrium
mt	Mikrotubuli
N	Kern
nm	Kernmembran
P	Polyphosphat
PK	Perinukleärer Körper
PL	Plasmalemma
pm	Plasmamembran
St	Stärke
Th	Thylakoide
Zw	Zellwand

Die Vergrößerung beträgt - wenn nicht anders angegeben - 40 000 fach.

Abb. 1: Acetabularia mediterranea.

Abb. 2: Polyphysa cliftonii.

cm
1

cm
2

Abb. 3: Schema des Entwicklungszyklus von Acetabularia. A = Zygote, B = keimende Zygote, C, D = Keimlinge, E, F = wachsende Zellen mit sterilen Wirteln, G = Zelle mit jungem Hut, H = Zelle mit "großem" Hut, I, K = Zerfall des Primärkerns und Bildung von Cysten (L), L = Cyste, M = schwärmende Gameten (nach Streitbürger, 1972).

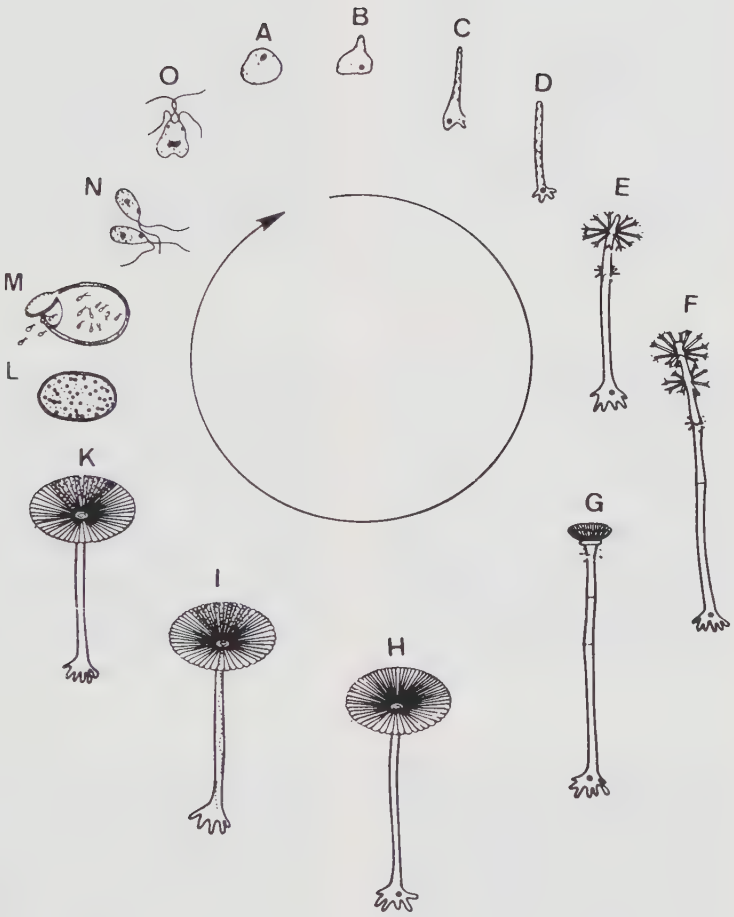
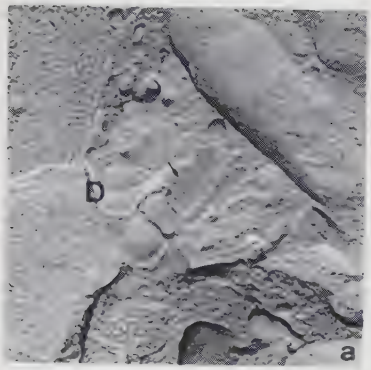
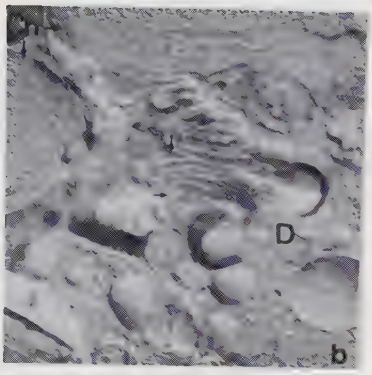
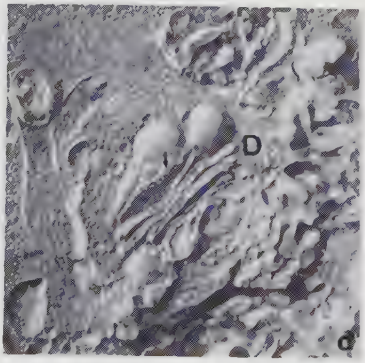
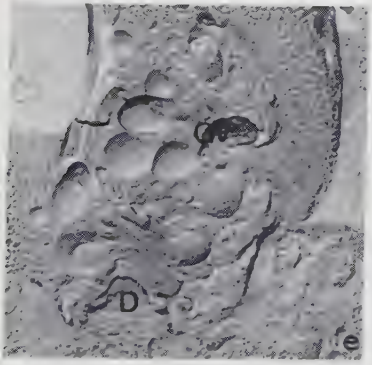

A
B
C
D
E
F
G
H
I
K
L
M
N
O

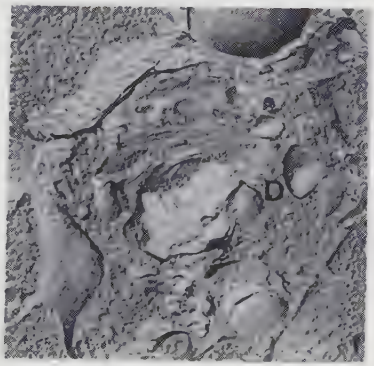
Abb. 4 a-f: Dictyosomen aus Vorderstücken von Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.









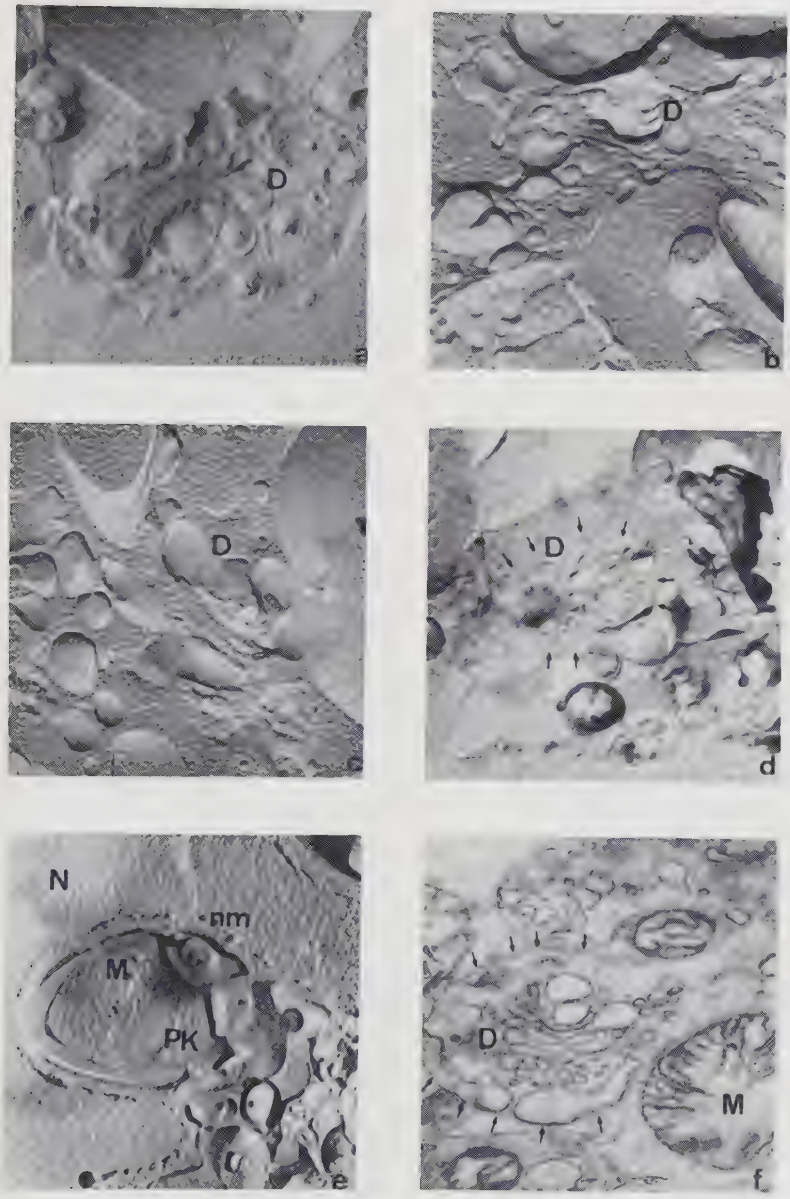


μ

Abb. 5 a-d: Dictyosomen aus den Rhizoiden von Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.

5 e: Ausschnitt aus dem Kern und dem perinukleären Cytoplasma aus dem Rhizoid von Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.

5 f: Dictyosom aus dem Rhizoid von Acetabularia mediterranea. $KMnO_4$-Fixierung → Markierung des "Golgi-Feldes".



μ

Abb. 6 a-f: Dictyosomen aus den Rhizoiden von Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.

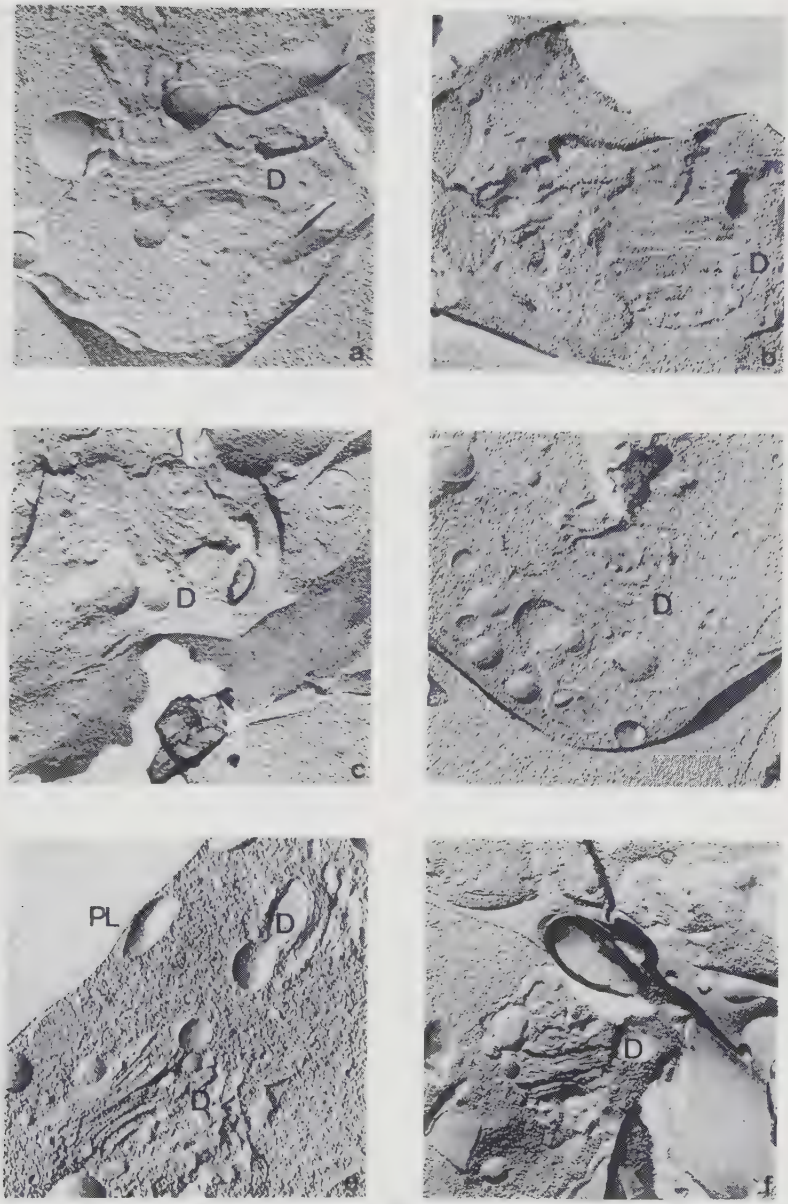
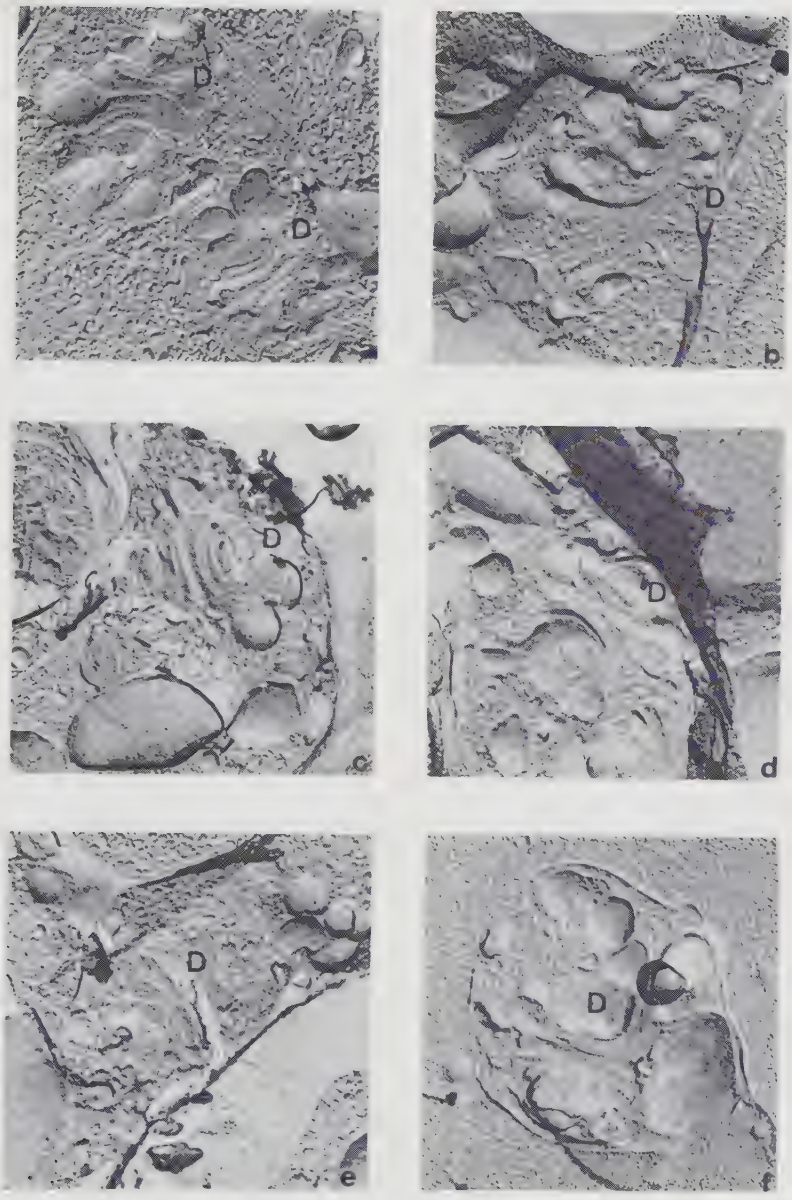

D
a
D
b
D
c
D
PL
D
D
e
D
f
μ

Abb. 7 a-f: Dictyosomen aus kernlosen Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.



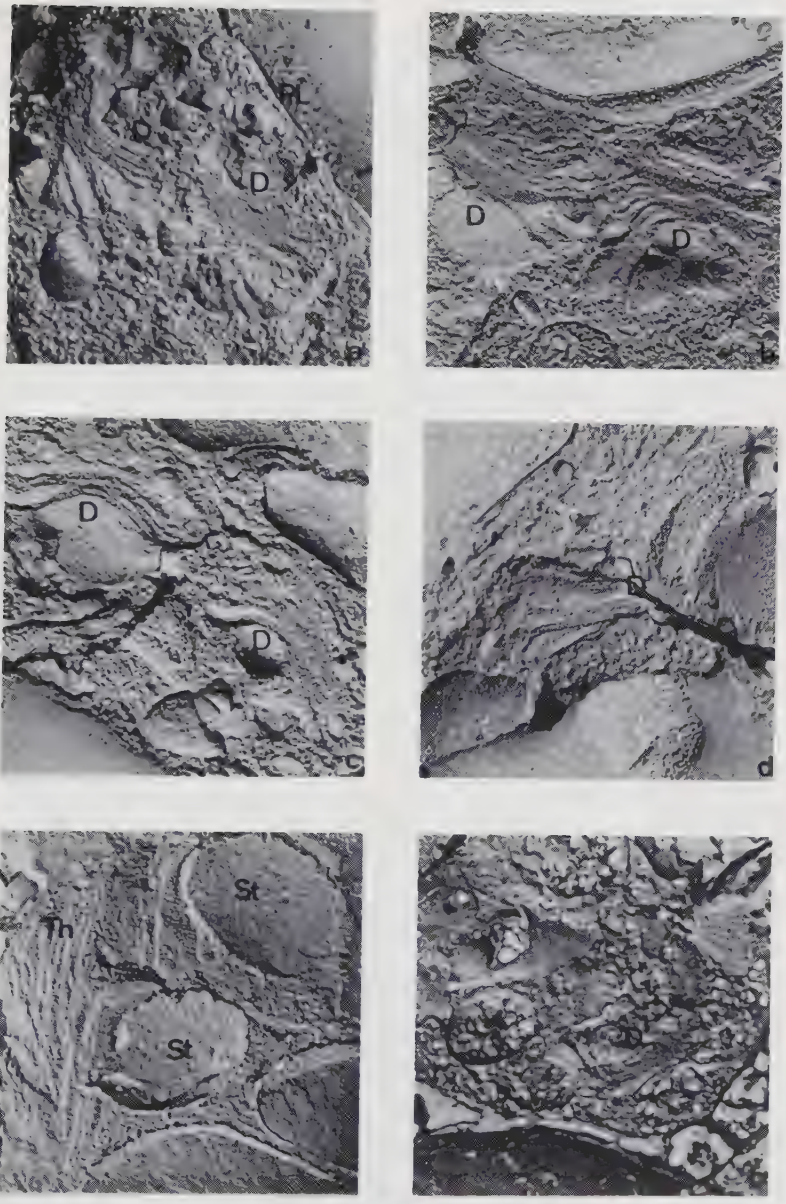
μ

Abb. 8 a-d: Dictyosomen aus kernlosen Vorderstücken von Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.

Abb. 9 a, b: Puromycin behandelte Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung

a) Stärkeakkumulationen im Chloroplasten

b) Dictyosomenähnliche Struktur.



μ

Abb. 10 a-e: 3 Wochen verdunkelte Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.

a-c: Dictyosomen

d: vermehrte Thylakoide im Chloroplasten

e: Vesikelansammlung am Plasmalemma.

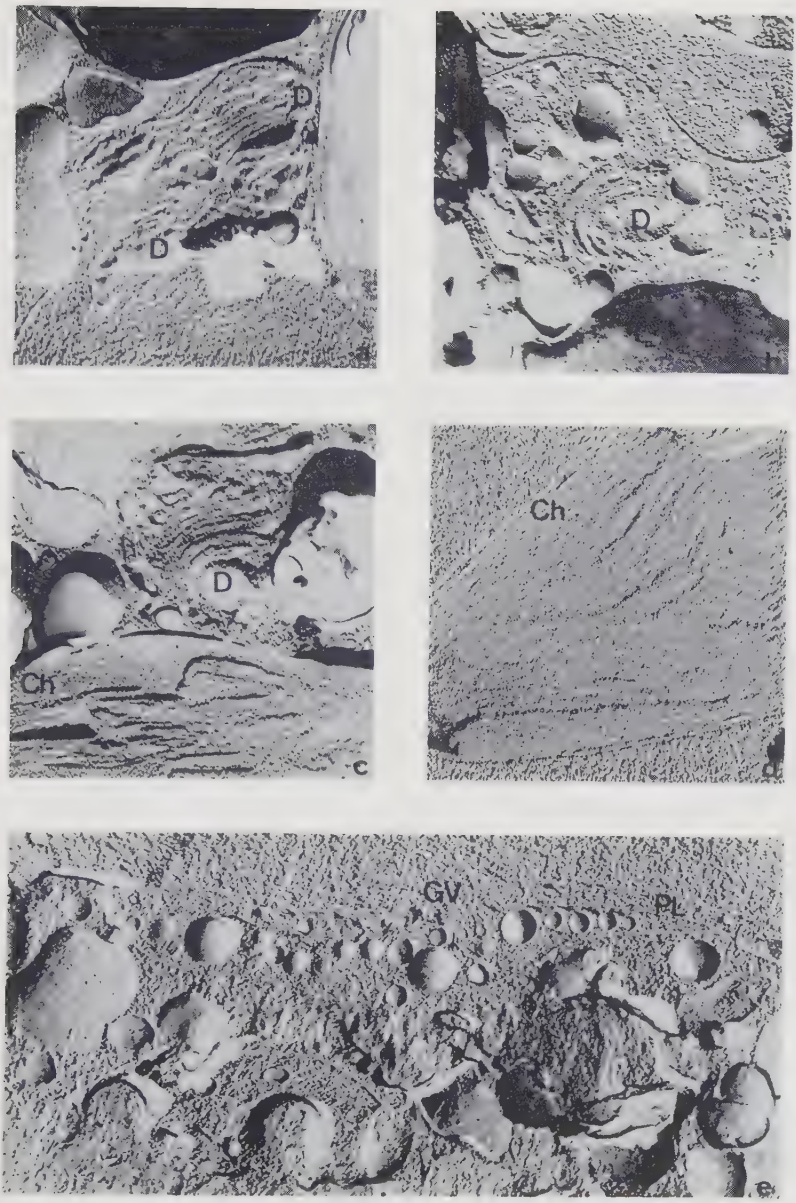
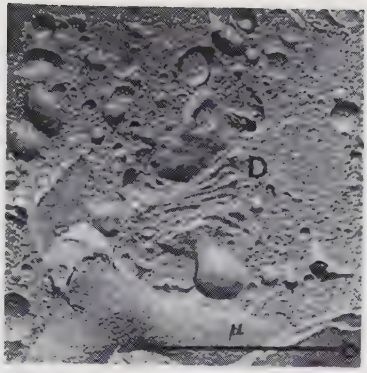
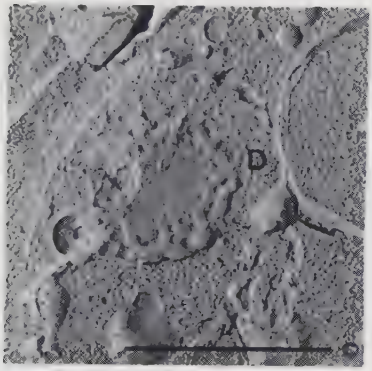

D
D
D
D
Ch
c
Ch
d
GV
PL
e
μ

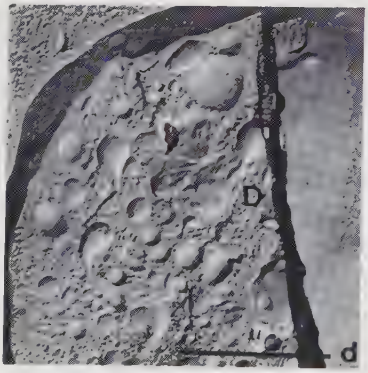
Abb. 11 a-e: Dictyosomen in Gametenzellen von Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.

Vergrößerung a: 32 000
b: 40 000
c: 40 000
d: 30 000
e: 40 000

D
N
a


D
M
b


D
c


D
d

D
D
D
D
N
e

Abb. 12 a-f: Zygotenzellen von Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.

a: Anreicherung von vesikulären Elementen im Cytoplasma bei der Ausbildung der Zellwand

b-f: Dictyosomen

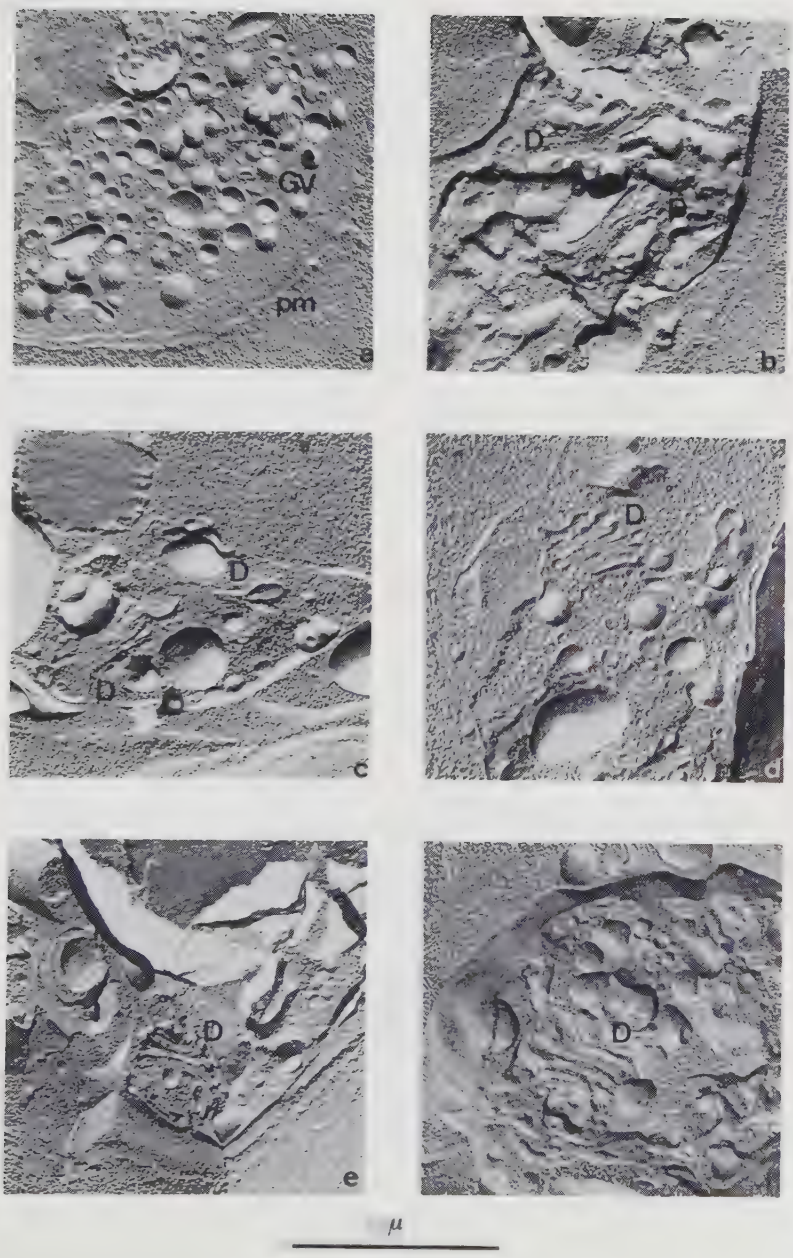
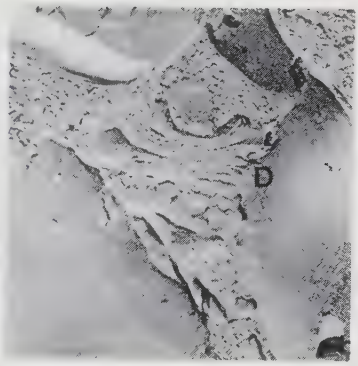
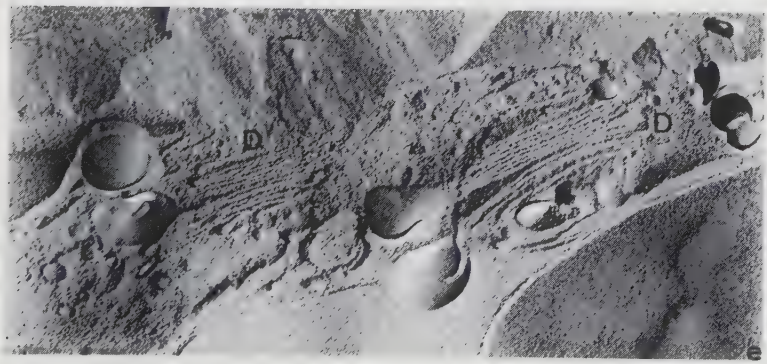

GV
pm
a
D
P
b
D
D
c
D
d
D
e
μ

Abb. 13 a-e: Dictyosomen aus 4 Wochen alten Cysten von Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.





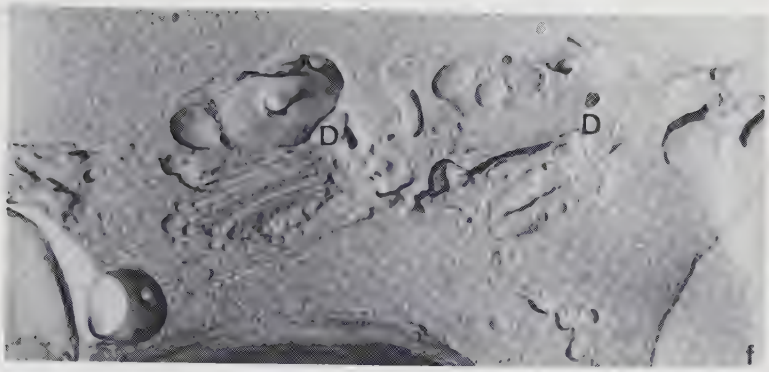
μ

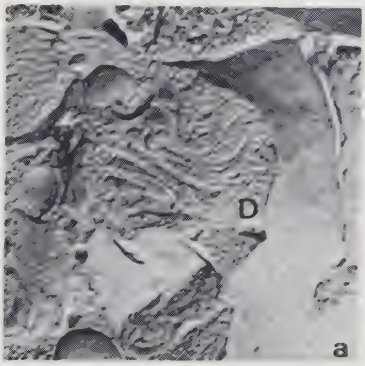
Abb. 13 f: Dictyosomen aus 4 Wochen alten Cysten von Polyphysa cliftonii nach Gefrierätzung.

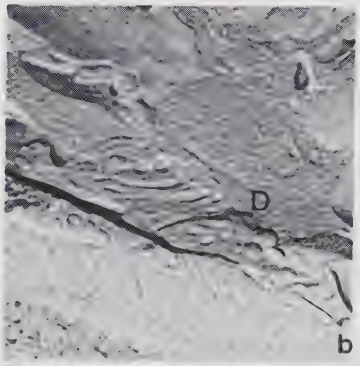
Abb. 14 a-d: Dictyosomen aus Cysten von Acetabularia mediterranea nach Gefrierätzung.

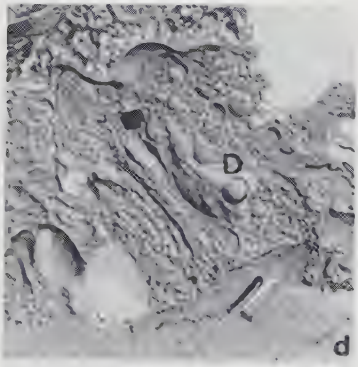
a, b, d: etwa 18 Monate alt

c: etwa 10 Monate alt









u

Abb. 15 a-f: Lokalisation von verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in den Dictyosomen aus Vorderstücken von Acetabularia mediterranea (Normalzellen).

a: ADP-ase

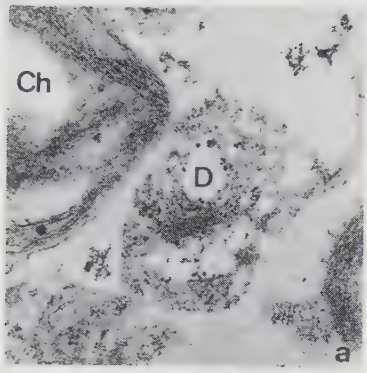
b: CDP-ase

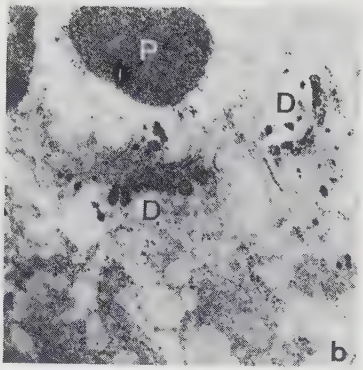
c: GDP-ase

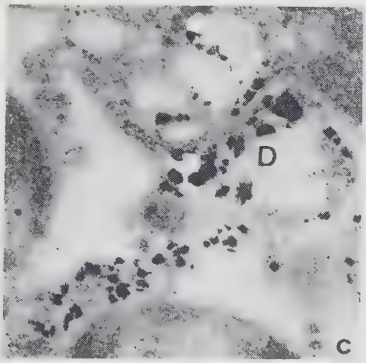
d: IDP-ase

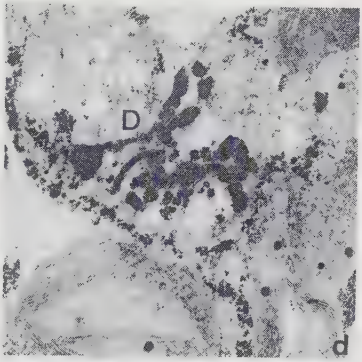
e: UDP-ase

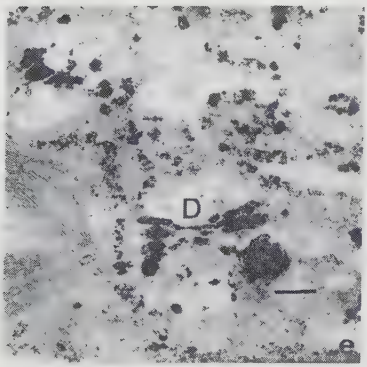
f: TPP-ase

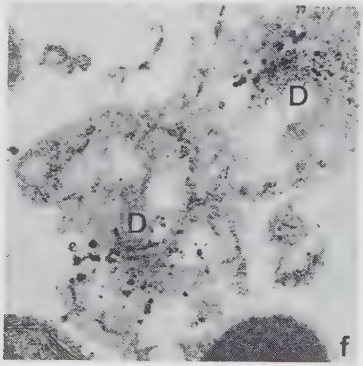












μ

Abb. 16 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in den Dictyosomen aus Vorderstücken von Polyphysa cliftonii (Normalzellen).

a: ADP-ase

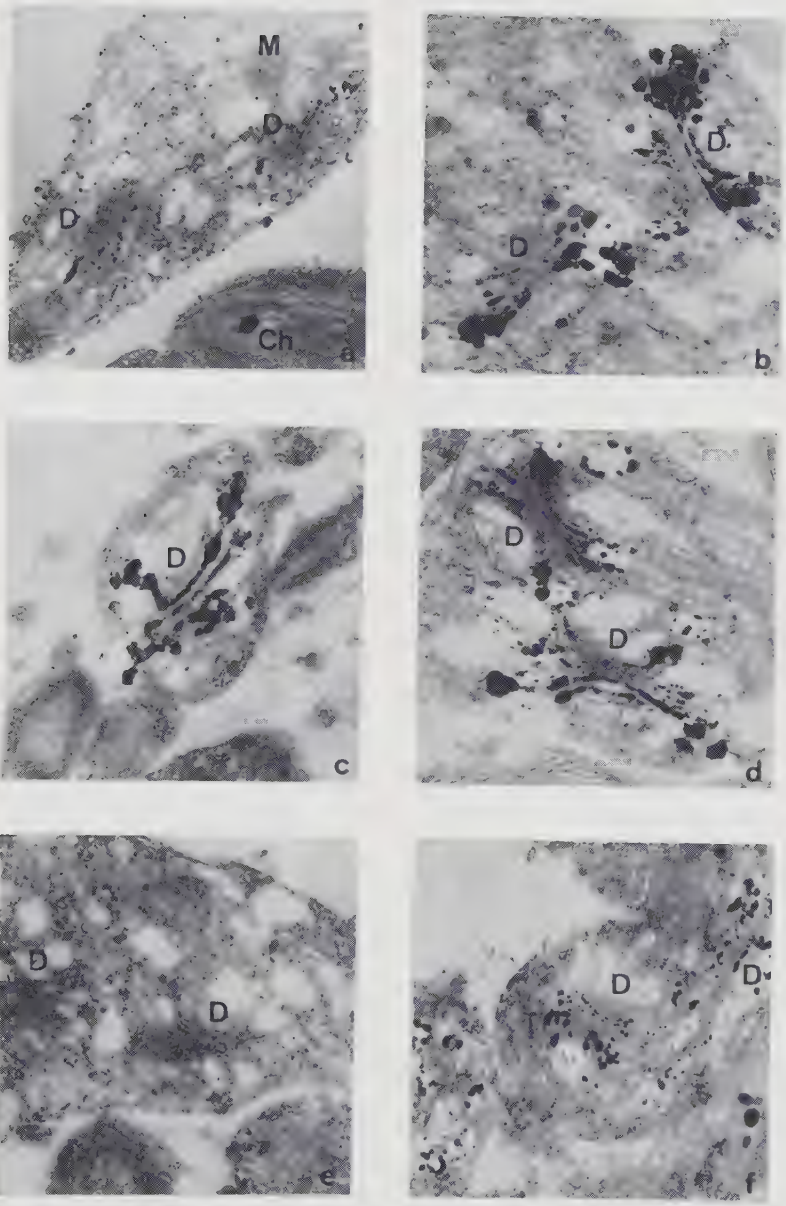
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 17 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in den Dictyosomen aus Rhizoiden von Acetabularia mediterranea (Normalzellen).

a: ADP-ase

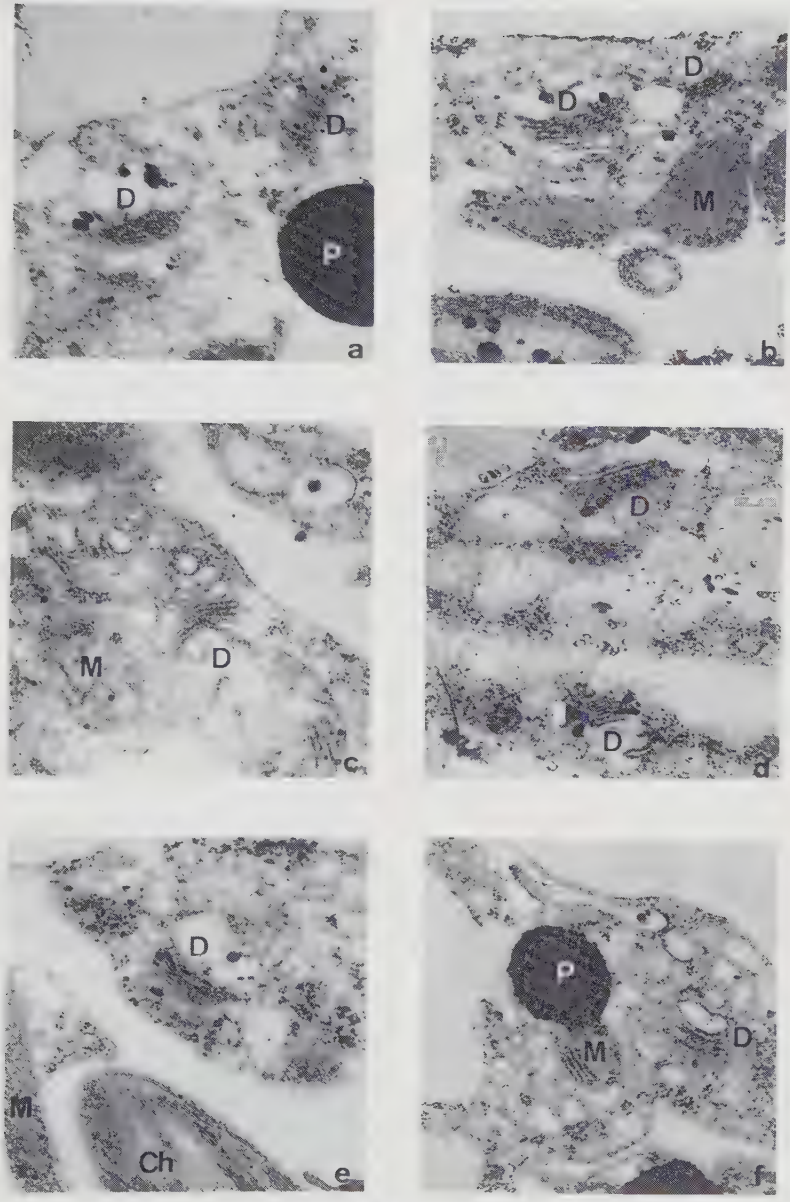
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 18 a-e: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 14 Tage kernlosen Acetabularia mediterranea.

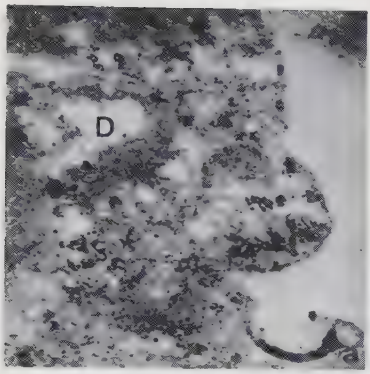
a: ADP-ase

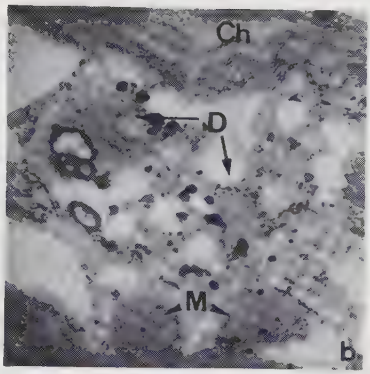
b: GDP-ase

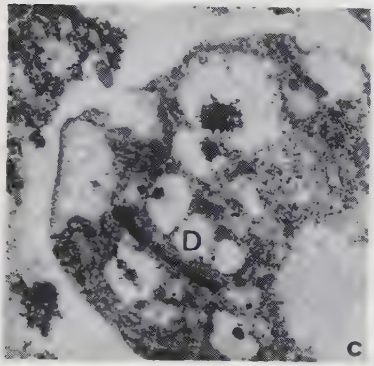
c: IDP-ase

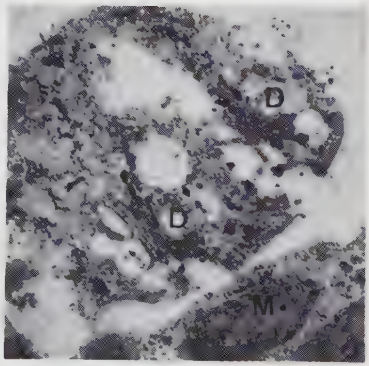
d: UDP-ase

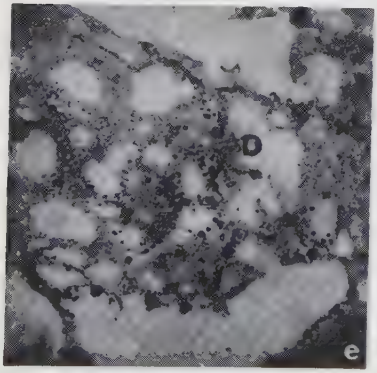
e: TPP-ase











μ

Abb. 19 a-e: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 28 Tage kernlosen Acetabularia mediterranea.

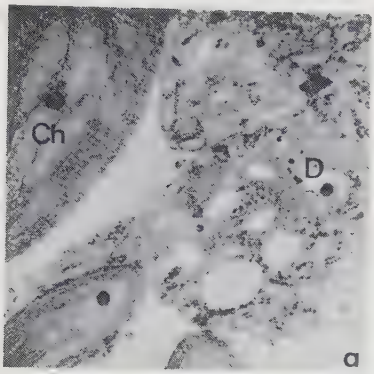
a: ADP-ase

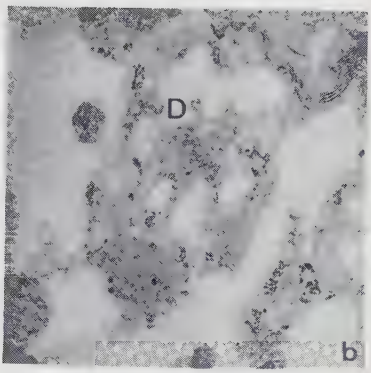
b: GDP-ase

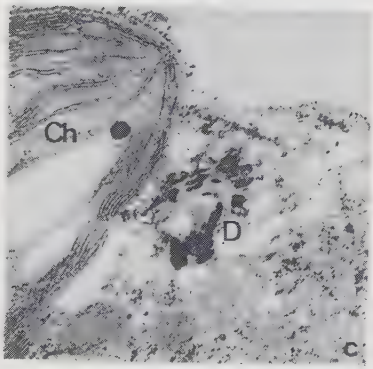
c: IDP-ase

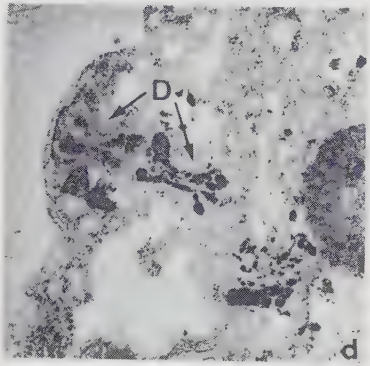
d: UDP-ase

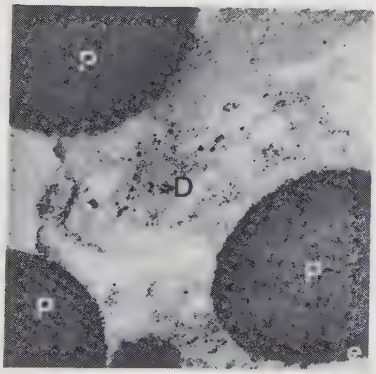
e: TPP-ase











μ

Abb. 20 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 14 Tage kernlosen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

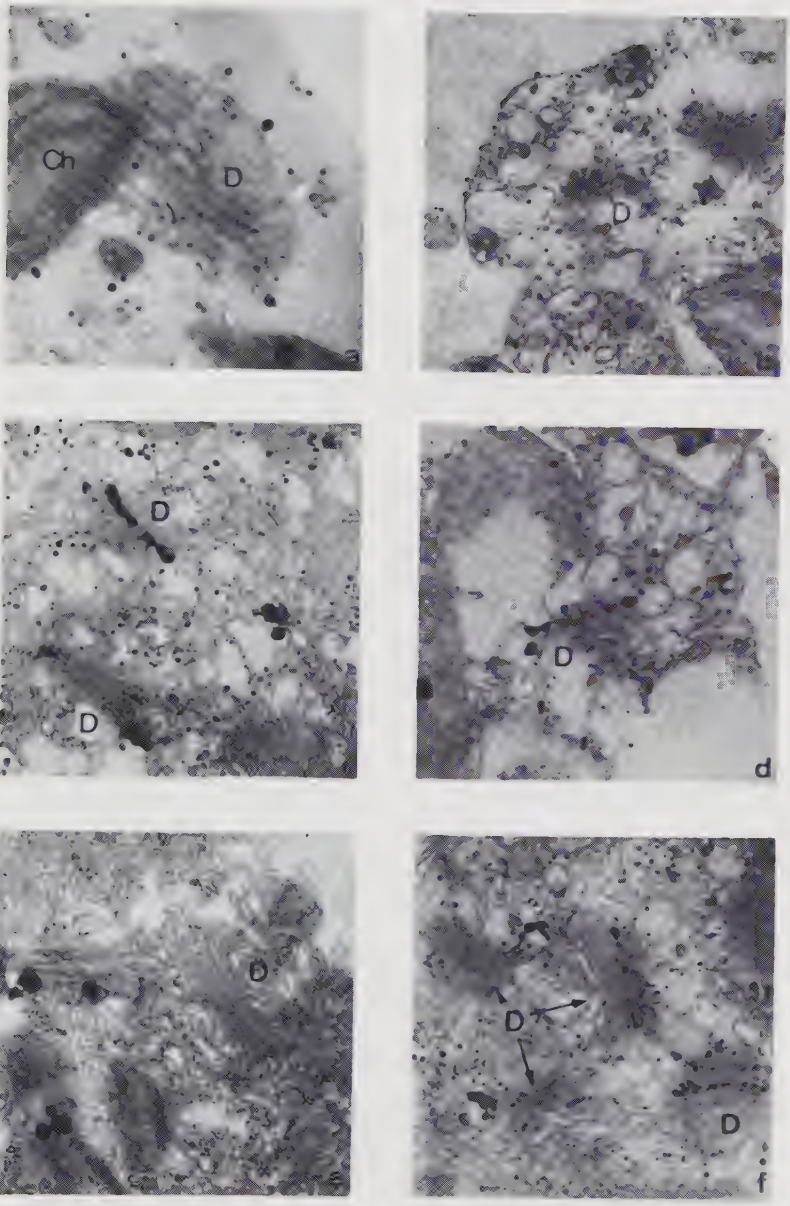
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 21 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 28 Tage kernlosen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

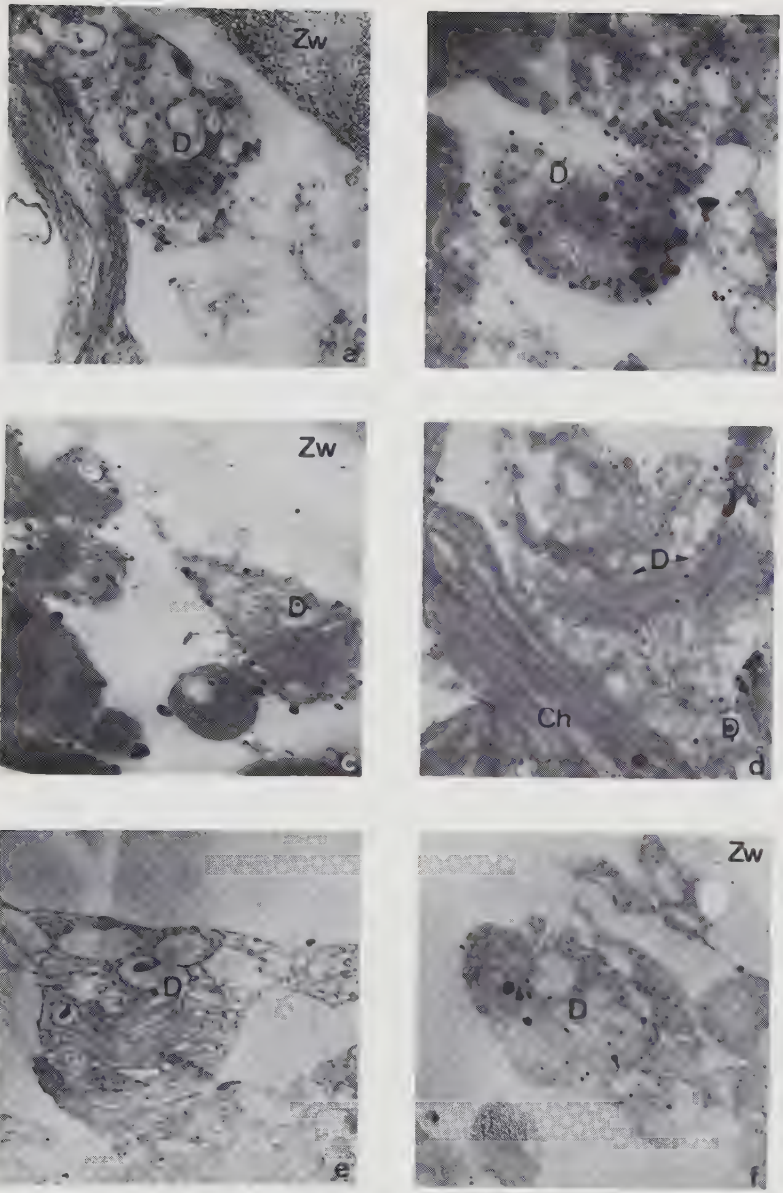
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 22 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Actinomycin behandelten, kernhaltigen Acetabularia mediterranea.

a: Kontrolle

b: ADP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase

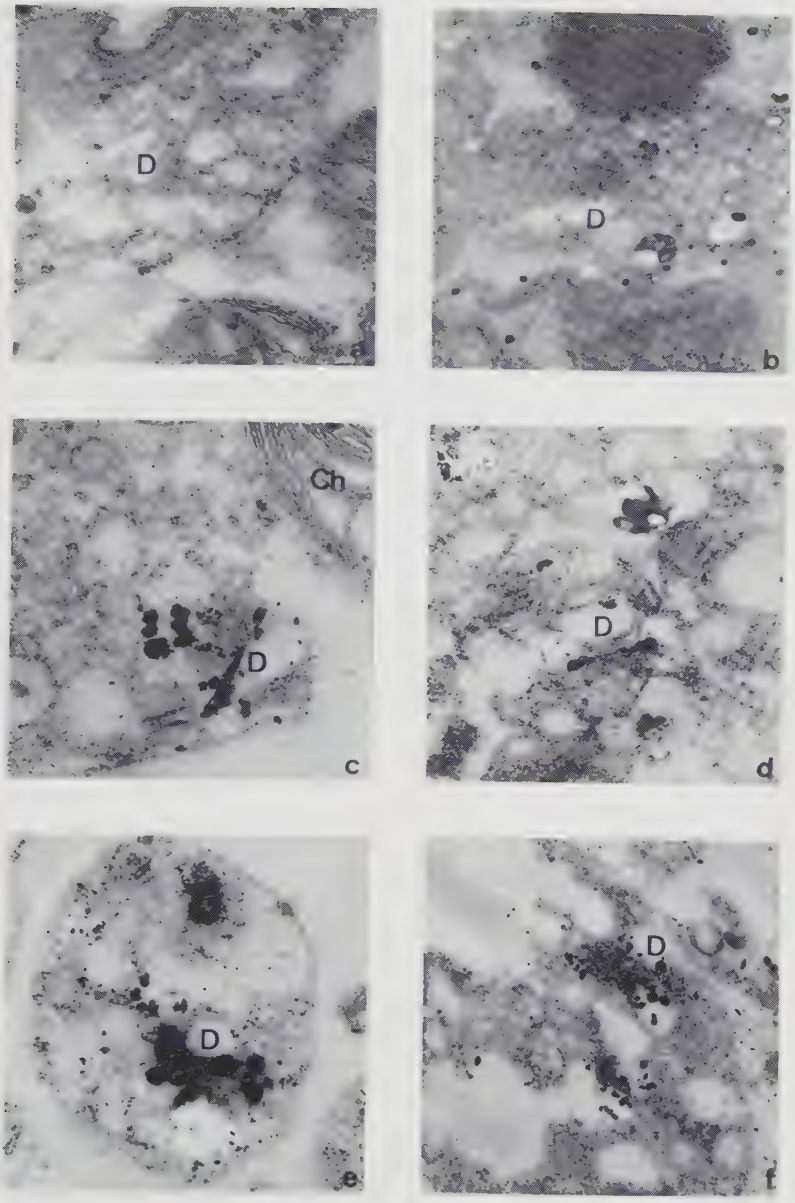

D
a
D
b
Ch
D
c
D
d
D
e
D
f
μ

Abb. 23 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Actinomycin behandelten, kernlosen Acetabularia mediterranea.

a: Kontrolle

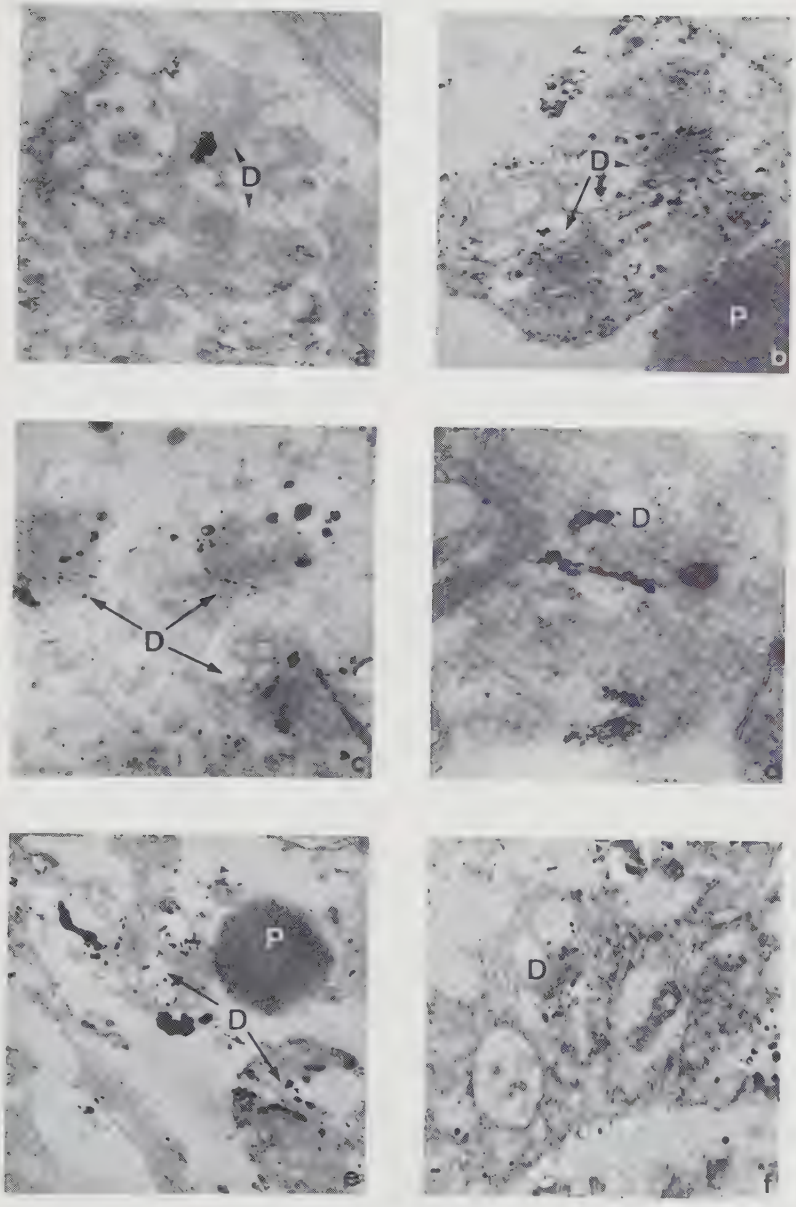
b: ADP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 24 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Actinomycin behandelten, kernhaltigen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

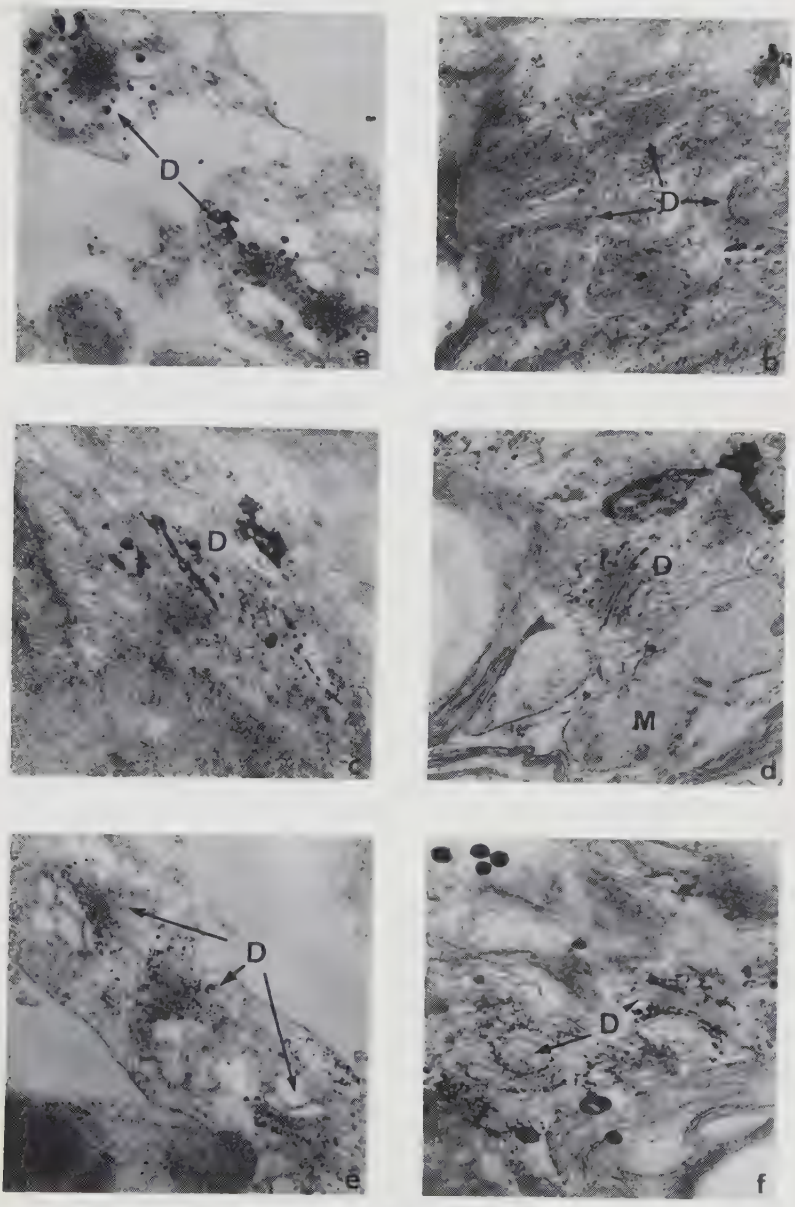
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 25 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Actinomycin behandelten, kernlosen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

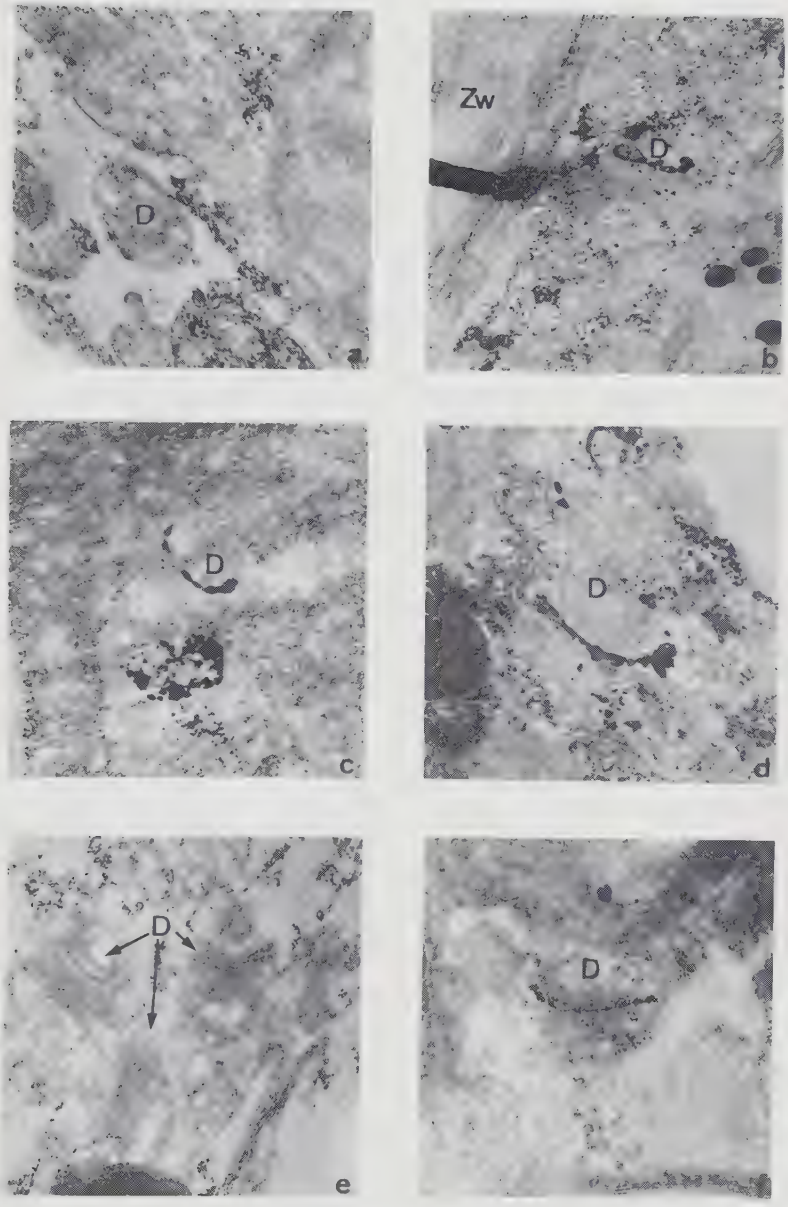
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 26 a-e: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Puromycin behandelten, kernhaltigen Acetabularia mediterranea.

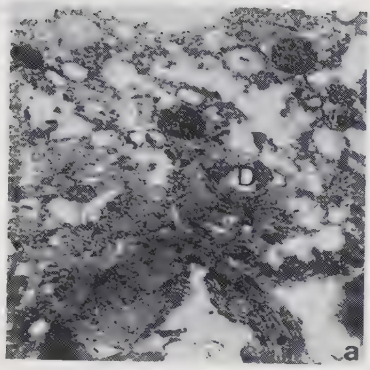
a: Kontrolle

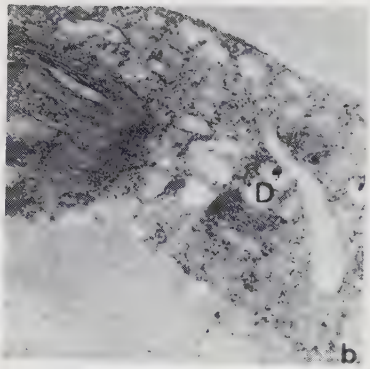
b: ADP-ase

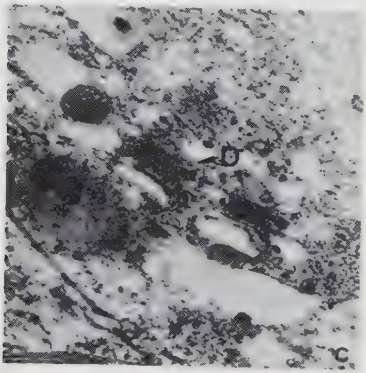
c: GDP-ase

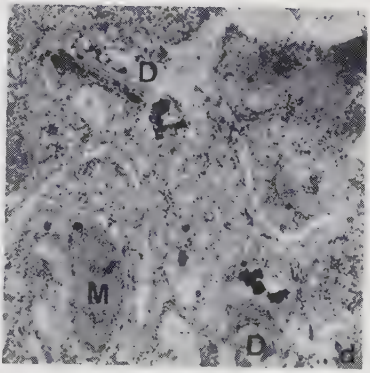
d: IDP-ase

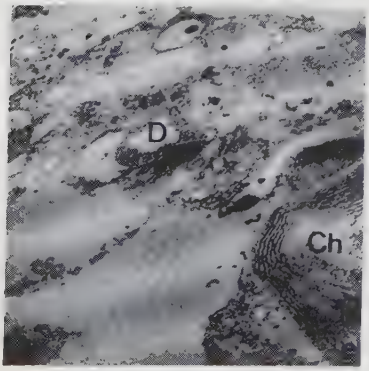
e: TPP-ase











μ

Abb. 27 a-e: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Puromycin behandelten, kernlosen Acetabularia mediterranea.

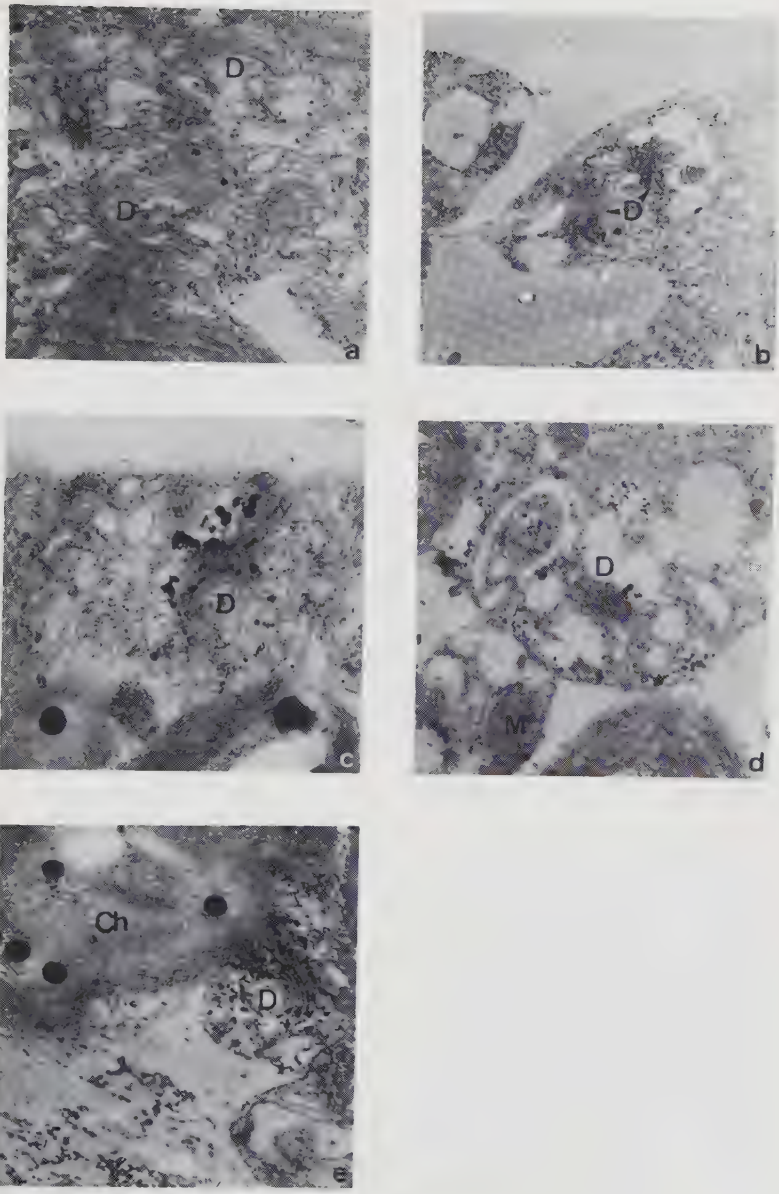
a: Kontrolle

b: ADP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: TPP-ase



μ

Abb. 28 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Puromycin behandelten, kernhaltigen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

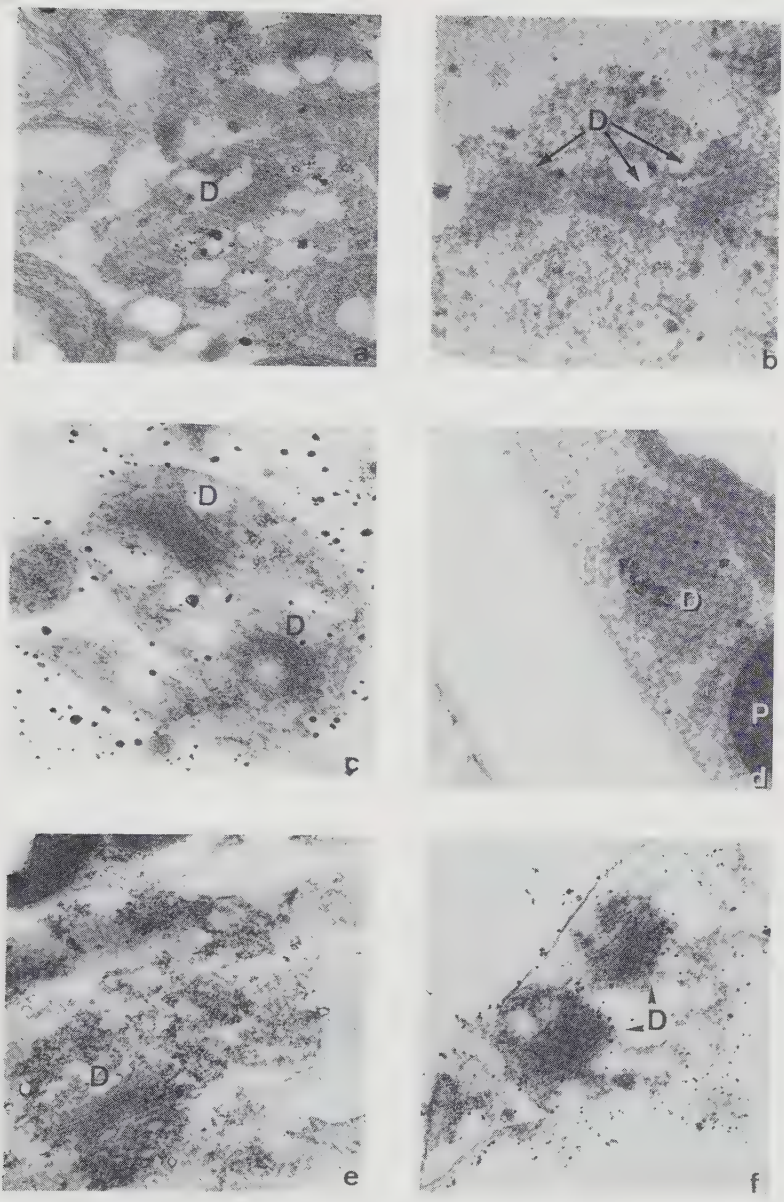
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 29 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Puromycin behandelten, kernlosen Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

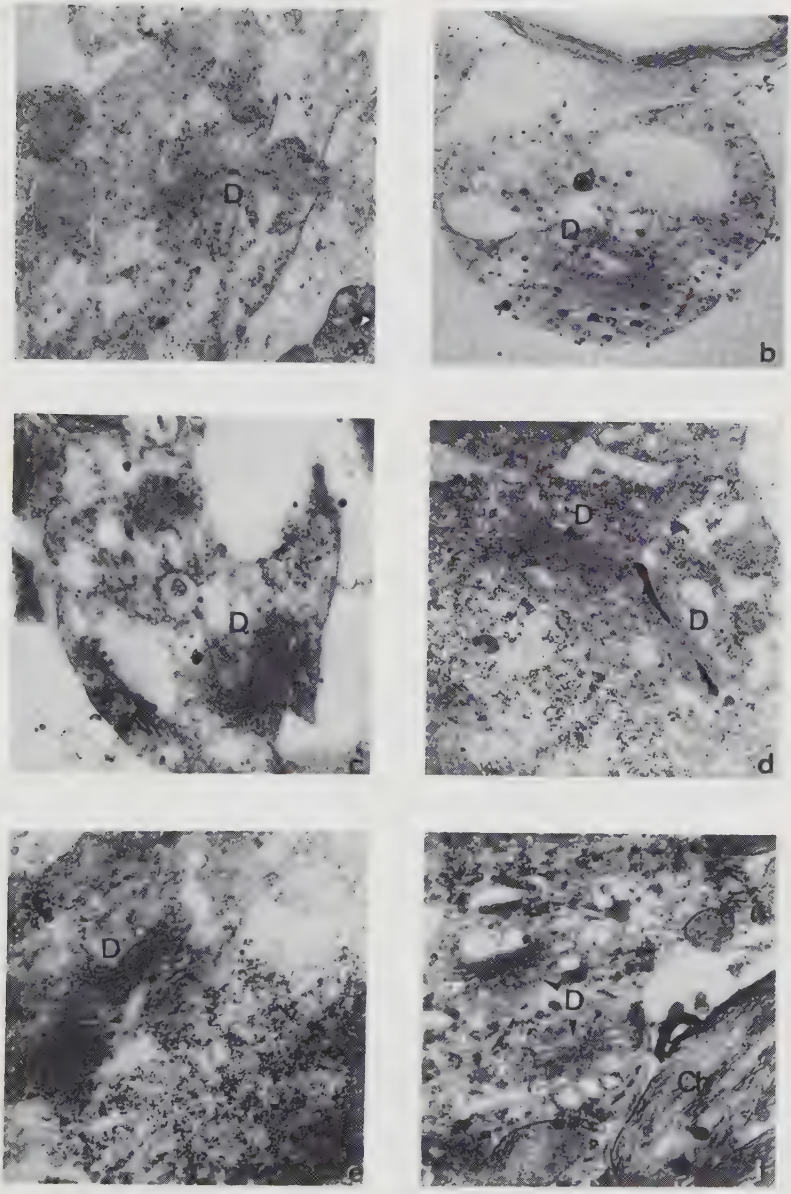
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 30 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 14 Tage verdunkelten Acetabularia mediterranea.

a: ADP-ase

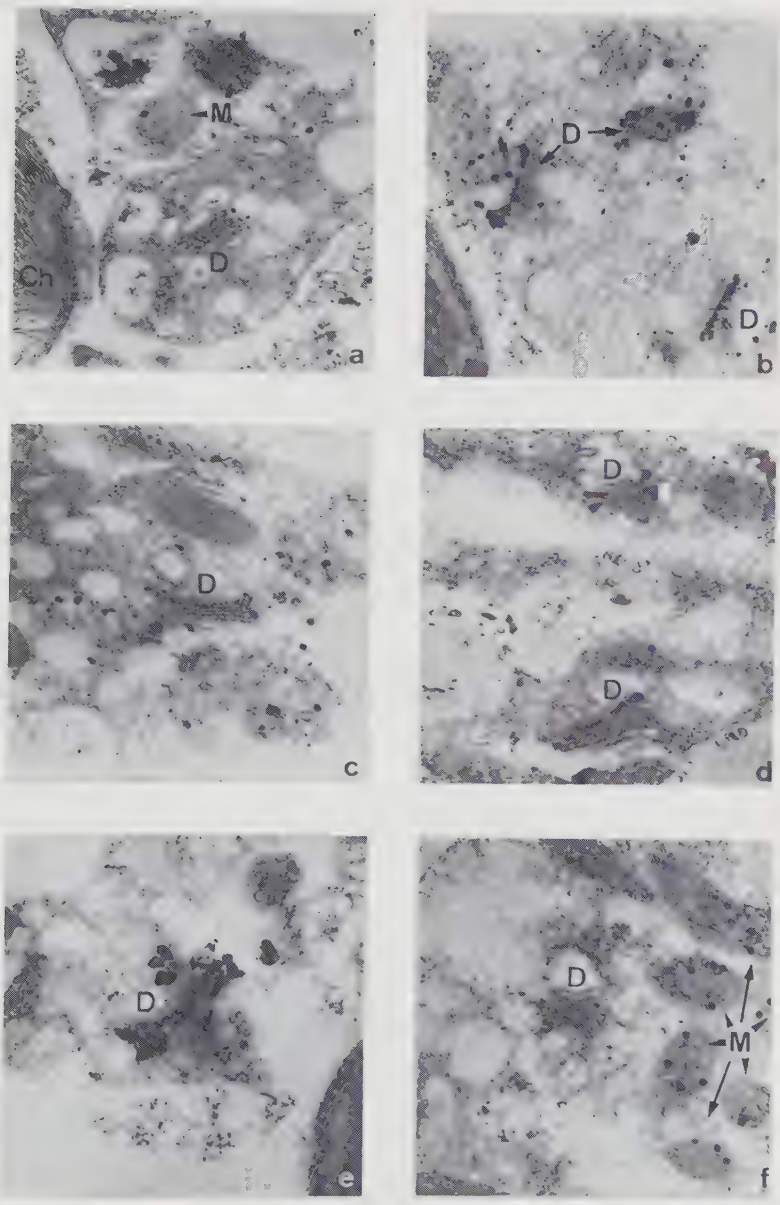
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 31 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 28 Tage verdunkelten Acetabularia mediterranea.

a: ADP-ase

b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase

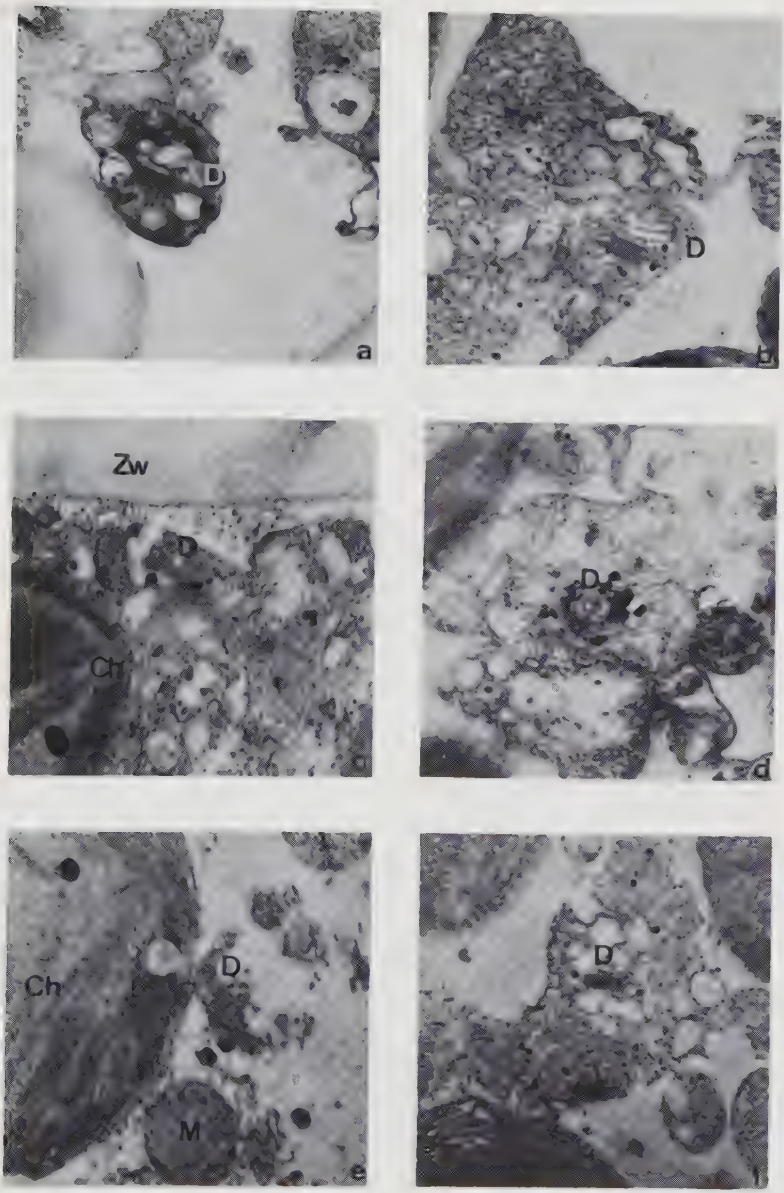

D
a
D
b
Zw
D
Ch
c
D
d
Ch
D
M
e
D
f
μ

Abb. 32 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 14 Tage verdunkelten Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase

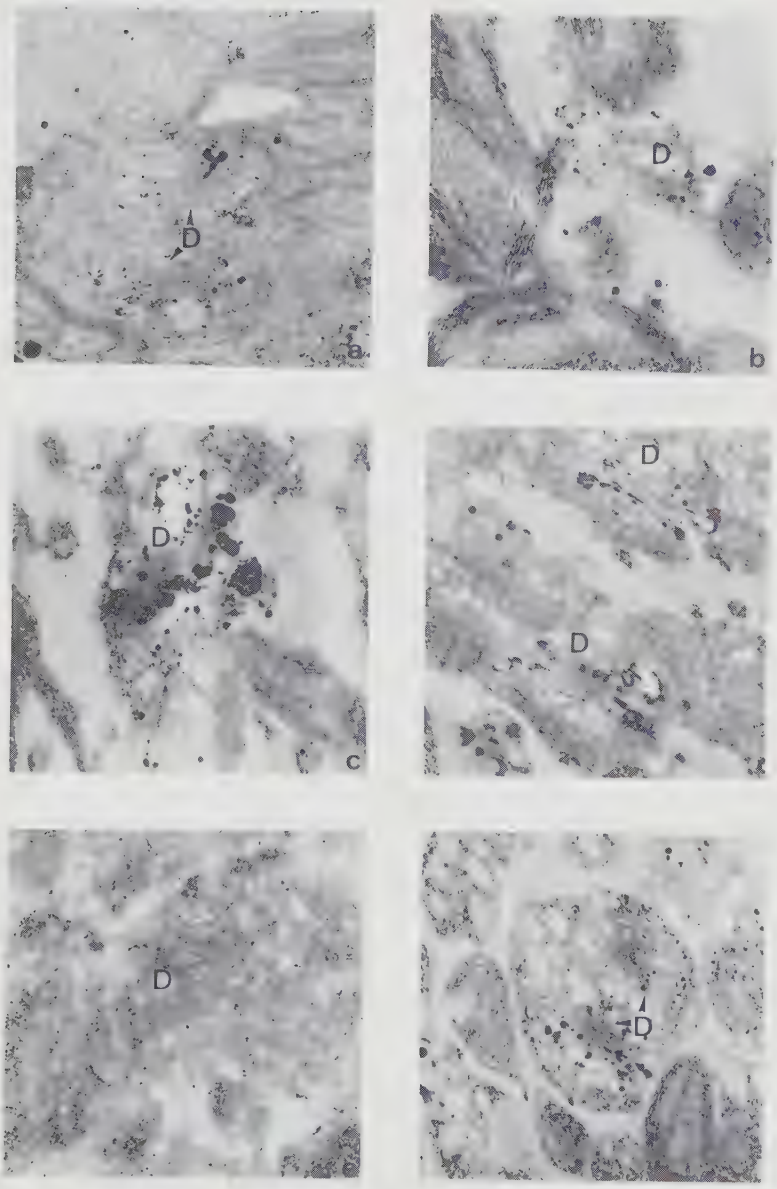

D
a
D
b
D
c
D
D
D
D

Abb. 33 a-f: Verhalten der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 28 Tage verdunkelten Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase

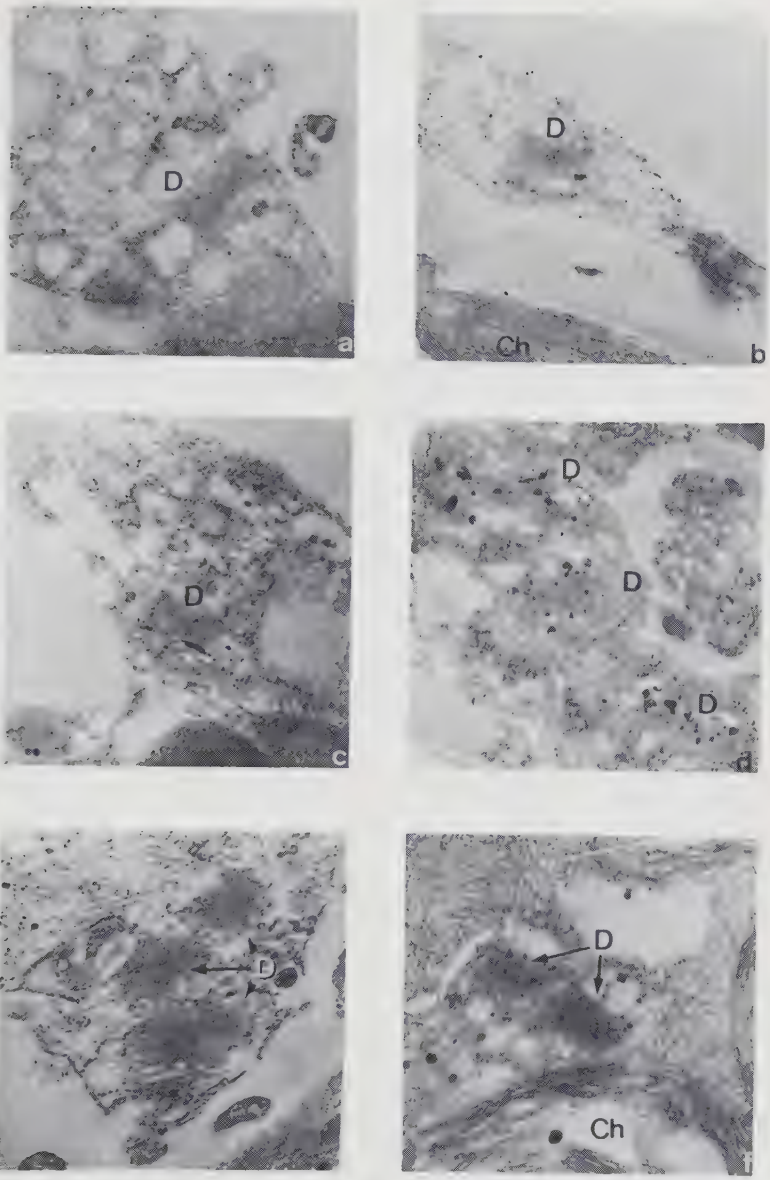

D
a
D
Ch
b
D
c
D
D
D
d
D
D
Ch
μ

Abb. 34 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Gametenzellen von Acetabularia mediterranea.

a: Kontrolle

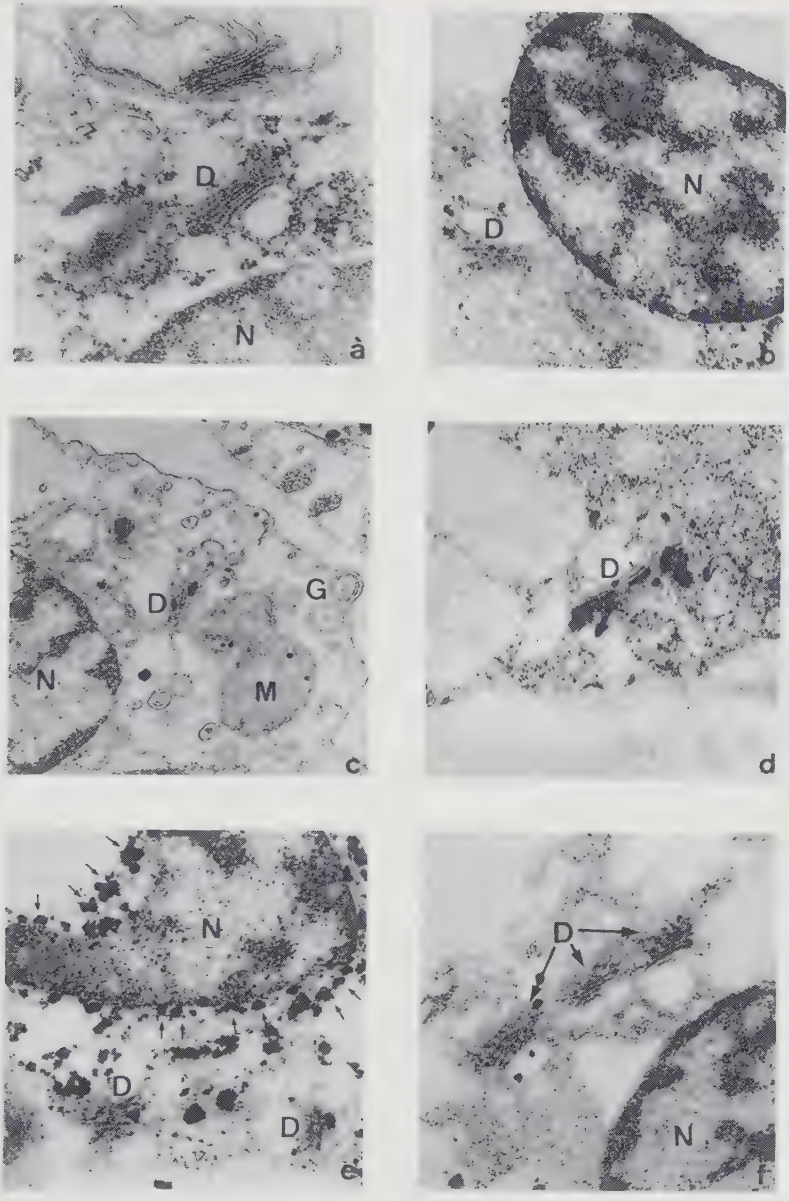
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 35 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in gerade entstandenen Zygotenzellen von Acetabularia mediterranea.

a: Kontrolle

b: ADP-ase

c: CDP-ase

d: GDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase

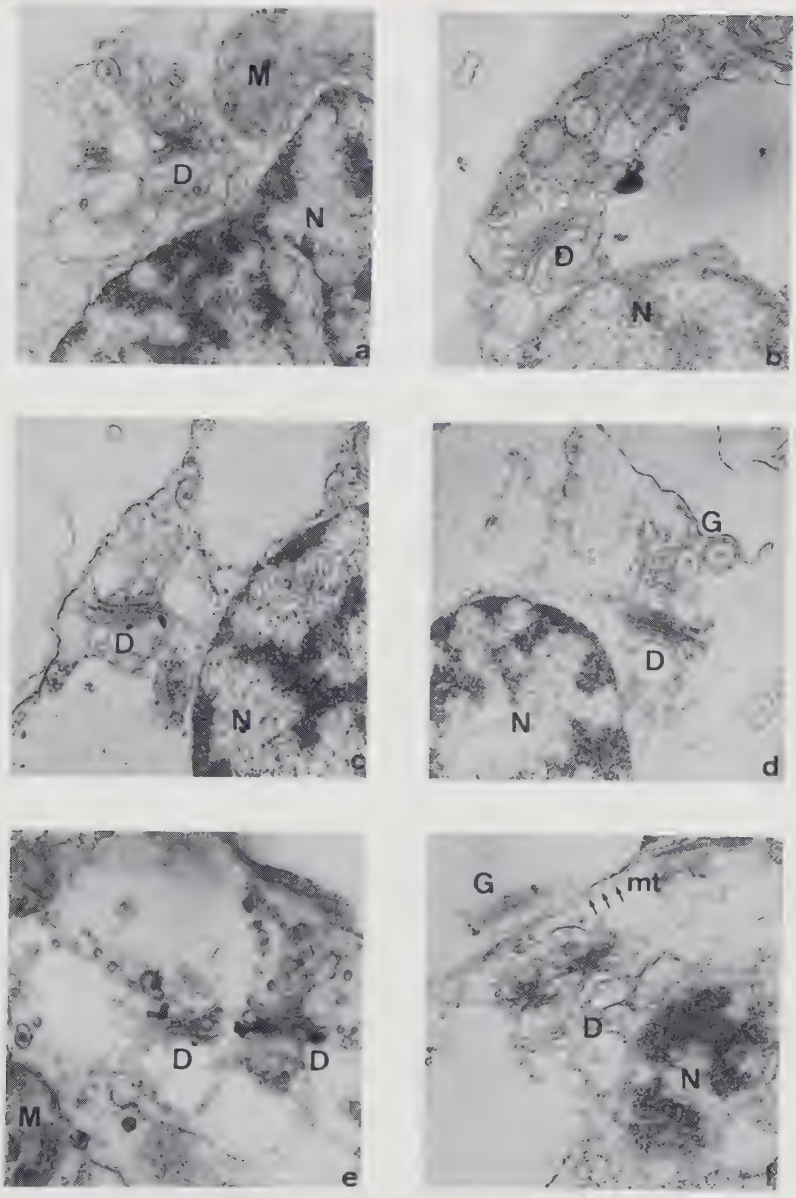

M
D
N
a
D
N
b
D
N
c
G
D
N
d
D
D
M
e
G
mt
D
N
f
μ

Abb. 36 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 6 Stunden alten Zygotenzellen von Acetabularia mediterranea.

a: ADP-ase

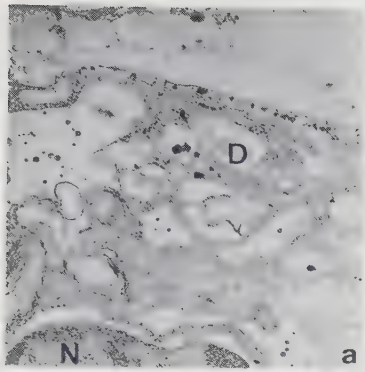
b: CDP-ase

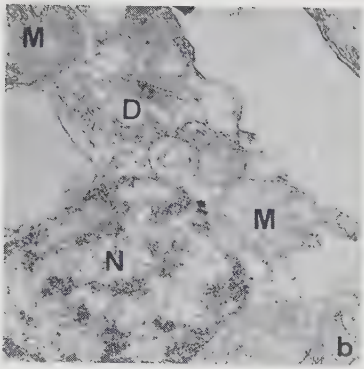
c: GDP-ase

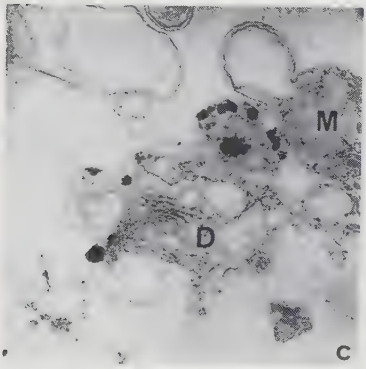
d: IDP-ase

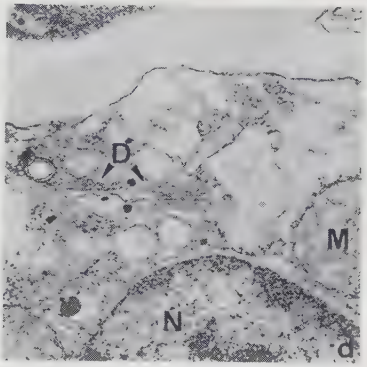
e: UDP-ase

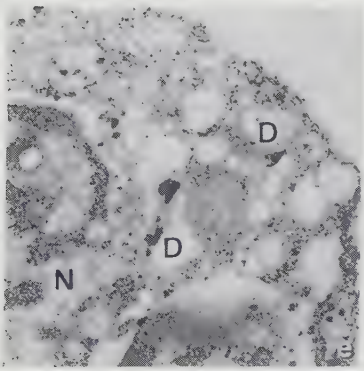
f: TPP-ase

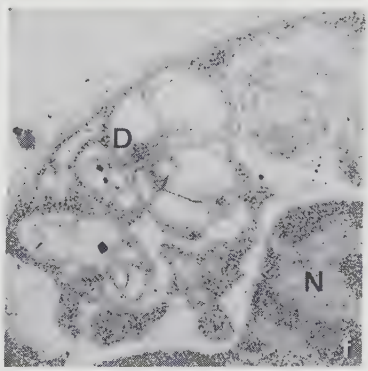












μ

Abb. 37 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 24 Stunden alten Zygotenzellen von Acetabularia mediterranea.

a: ADP-ase

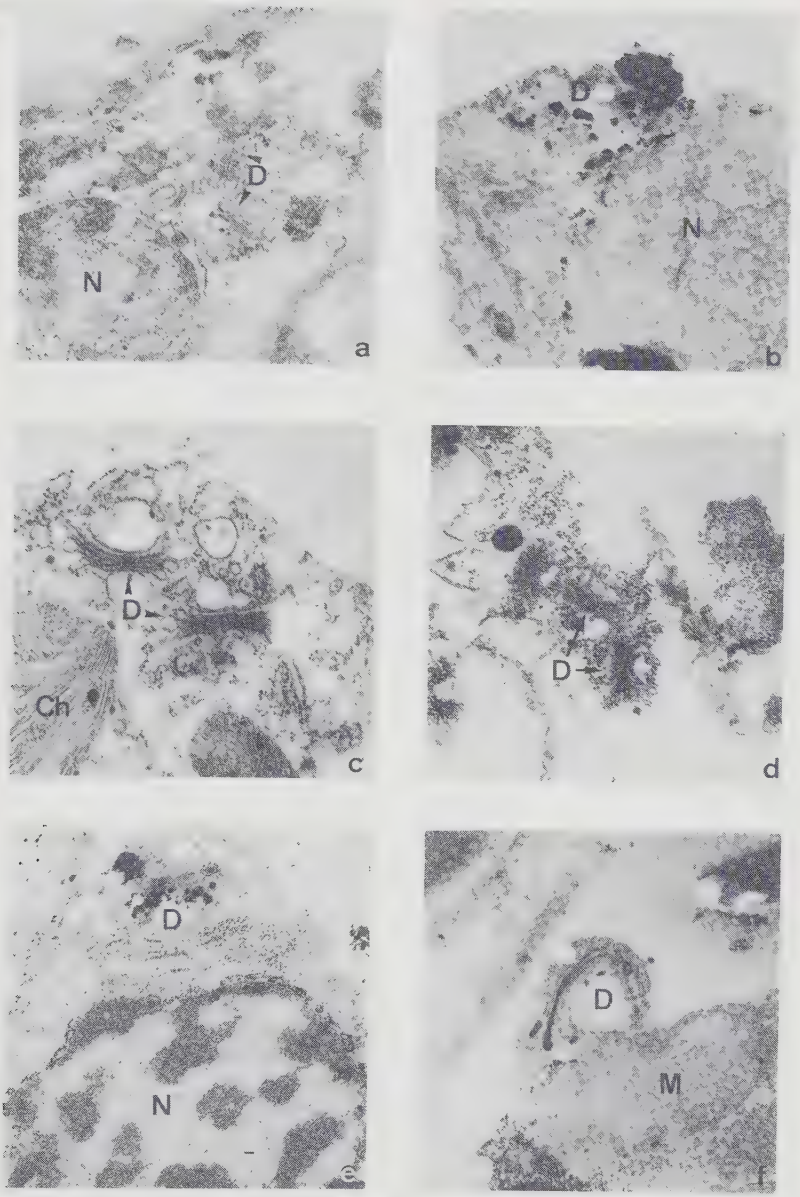
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 38 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in Gametenzellen von Polyphysa cliftonii.

a: ADP-ase

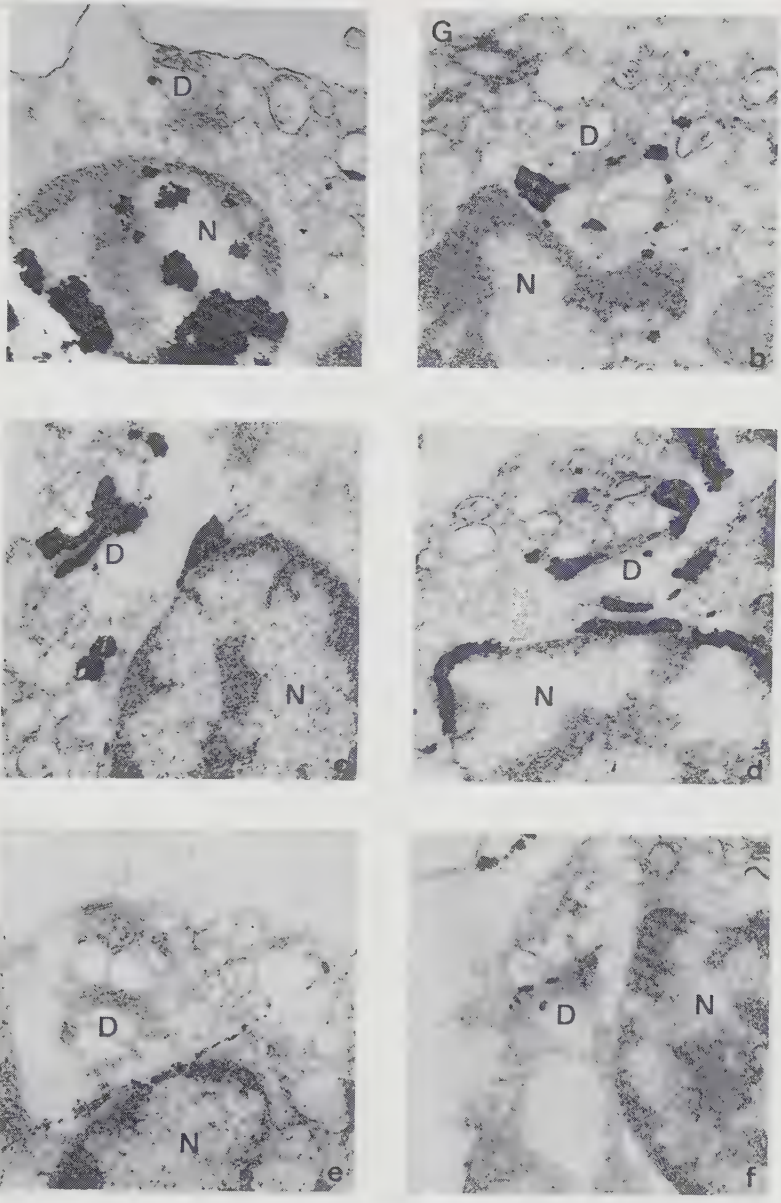
b: CDP-ase

c: GDP-ase

d: IDP-ase

e: UDP-ase

f: TPP-ase



μ

Abb. 39 a-f: Lokalisation der verschiedenen Nukleosiddiphosphatasen und Thiaminpyrophosphatase in 3 Stunden alten Zygotenzellen von Polyphysa cliftonii.

a: Kontrolle

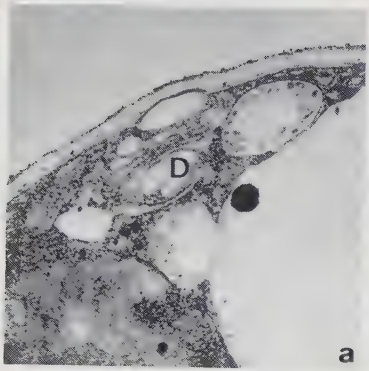
b: GDP-ase

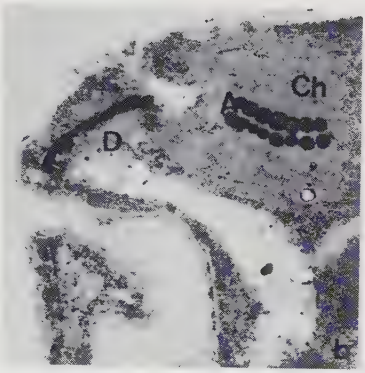
c: IDP-ase

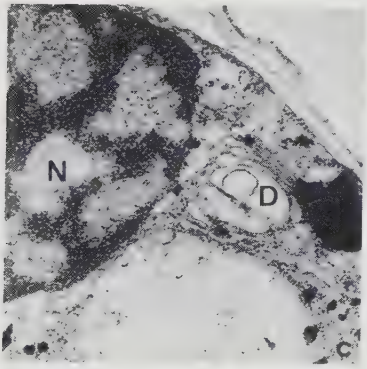
d: IDP-ase

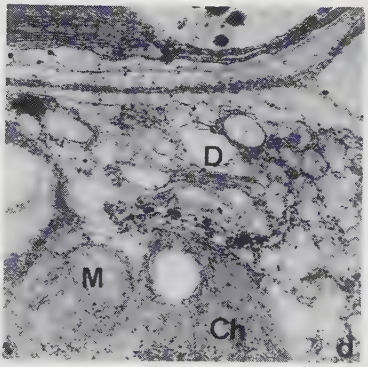
e: UDP-ase

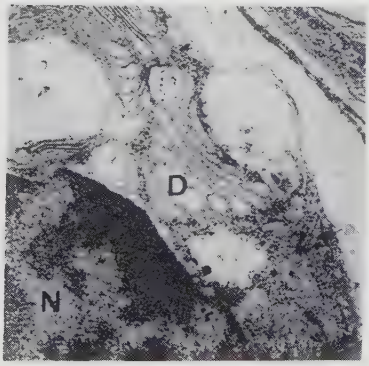
f: TPP-ase

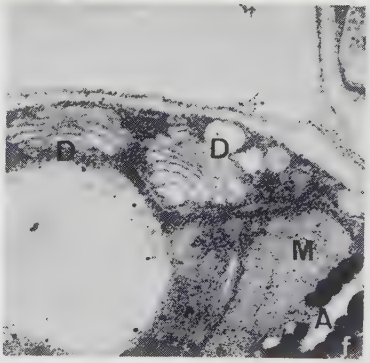












μ

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pflanzenphysiologie und Zellbiologie (Fachgebiet Feinstrukturforschung und Elektronenmikroskopie) der Freien Universität Berlin unter Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Werz angefertigt.

Ich danke ihm für das stete Interesse am Fortgang der Arbeit und die anregende Diskussion.

Herrn Michael Wehner danke ich für die technische Assistenz bei der Durchführung der Gefrierätzung, Frau Eveline Dorn für die Mithilfe bei den fotografischen Arbeiten und Fräulein Else Nielsen für das Schreiben des Manuskripts.

LEBENSLAUF

Name:	Heide Zerban
Geburtstag:	1. März 1944
Geburtsort:	Tolkemit, Kreis Elbing (Westpreußen)
Wohnort:	1 Berlin 41 (Steglitz), Rückertstr. 14
Vater:	Max Zerban Oberverwaltungsgerichtsrat i.R., 3o.4.19o5 - 24.3.1974
Mutter:	Helene Zerban, geb. Hassenstein Hausfrau, 19.6.o4
Sept.195o - März 1956:	Mühlenau-Schule in Berlin-Zehlendorf
März 1956 - März 1963:	Arndt-Schule in Berlin-Dahlem
SS 1963 - SS 1965	Freie Universität Berlin Studium der Biologie, Chemie und Geographie
WS 1965/66 - SS 1966:	Ludwig-Maximilian-Universität in München
WS 1966/67 - WS 1969/7o:	Freie Universität Berlin
Mai 197o:	Staatsexamen für das Lehramt an höheren Schulen in Biologie, Chemie und Geographie Thema der Arbeit: Untersuchungen über die Wirkung von Auxin und Aminosäuren auf die Embryogenese in vitro Leitung: Prof. Dr. J. Reinert

1.10.1967-31.7.1970:	wissenschaftliche Hilfsassistentin am Pflanzenphysiologischen Institut der Freien Universität Berlin
seit 1.8.1970:	wissenschaftliche Assistentin im Fachgebiet für Feinstrukturforschung und Elektronenmikroskopie am Institut für Pflanzenphysiologie und Zellbiologie der Freien Universität Berlin